

**BEITRAG ZUR CHEMISCHEN ZU-
SAMMENSETZUNG DES KAWATRANKES**

(AUS PIPER METHYSTICUM FORST.)

**INAUGURAL-DISSERTATION
ZUR ERLANGUNG DER DOKTORWÜRDE
DES FACHBEREICHS PHARMAZIE
DER FREIEN UNIVERSITÄT BERLIN**

**VORGELEGT VON
JULIANA LAZAR
AUS GELSENKIRCHEN-BUER
BERLIN 1983**

Druck: Copy-Center in Dahlem
Ladenbergstraße 2-4
1000 Berlin 33
Tel. 831 40 25

BEITRAG ZUR CHEMISCHEN ZUSAMMENSETZUNG
DES KAWATRANKES

(AUS PIPER METHYSTICUM FORST.)

INAUGURAL-DISSERTATION

ZUR ERLANGUNG DER DOKTORWÜRDE
DES FACHBEREICHS PHARMAZIE
DER FREIEN UNIVERSITÄT BERLIN

VORGELEGT VON

JULIANA LAZAR

AUS GELSENKIRCHEN-BUER

BERLIN 1983

Referent: Professor Dr. R. Hänsel

Koreferent: Professor Dr. W. Löwe

Tag der mündlichen Prüfung: 19. Dezember 1983

Meinen lieben Eltern in Dankbarkeit gewidmet

Die vorliegende Arbeit wurde am Institut für Pharmakognosie und Phytochemie der Freien Universität Berlin unter Anleitung von Herrn Professor Dr. R. Hänsel durchgeführt.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Professor Dr. R. Hänsel für die Überlassung des Themas der vorliegenden Arbeit, das Beschaffen der Drogen und für seine wohlwollende Betreuung während der Zeit, in der ich mich mit dieser Arbeit befaßte.

Herrn Dr. G. Koch vom Museum für Völkerkunde, Abteilung Südsee, in Berlin danke ich für das Beschaffen der Drogen aus Samoa und Viti (Fidschi-Inseln).

Allen Mitarbeitern des Institutes für Pharmakognosie und Phytochemie möchte ich an dieser Stelle für die gute Zusammenarbeit danken , vor allem Herrn W. Bähr, Herrn Dr. J. T. Huang und Herrn Dr. M. Kaloga, sowie Herrn Dr. W. Mehnert und Herrn T. Schurreit am Pharmazeutischen Institut.

Der Analytischen Abteilung am Pharmazeutischen Institut der Freien Universität Berlin danke ich für die Anfertigung der Spektren.



I N H A L T S V E R Z E I C H N I S

1.	AUSGANGSPUNKT UND ZIEL DER ARBEIT	1
1.1	Der Kawatrank und seine eigenartige Zubereitung	1
1.2	Die Wirkung des Kawatrankes	3
1.3	Zuordnung der Wirkung zu lactonischen Inhaltsstoffen	4
1.4	Ziel der eigenen Untersuchungen	8
2	DER KAWATRANK ALS WASSERMAZERAT	17
2.1	Allgemeines	17
2.2	Welche lipophilen Kawainhaltsstoffe sind mit Wasser mazerierbar: Vergleichende Untersuchungen von Wassermazerat und Dichlormethanextrakt	20
2.2.1	Chemische Zusammensetzung des Dichlormethan- auszuges	22
2.2.1.1	Quantitative Bestimmung bereits bekannter Kawainhaltsstoffe	22
2.2.1.1.1	Trennung und quantitative Bestimmung der Kawapyrone mittels HPLC	23
2.2.1.1.2	Bestimmung der Chalkone (Flavokawine) durch Auswertung von Dünnschichtchromatogrammen	30
2.2.1.1.3	Gaschromatographische Bestimmung von β -Sito- sterin	31
2.2.1.2	Nachweis, Isolierung und Identifizierung neuer lipophiler Nebenstoffe	33
2.2.1.2.1	Isolierung eines Steroids und Identifizierung als Stigmast-4-en-3,6-dion	34
2.2.1.2.2	Isolierung eines Flavanons und Identifizierung als 5-OH-4',7-Dimethoxyflavanon	41
2.2.1.2.3	Anhang: Bestätigung des Vorkommens von racemischen Pinostrobin, Diskussion über das Fehlen einer Chalkon-Flavanon-Isomerase	46
2.2.2	Chemische Zusammensetzung des Wassermazerates aus Rhizoma Kawa-Kawa	50
2.2.2.1	Quantitative HPLC-Bestimmung der Kawapyrone	51
2.2.2.2	Gehaltsbestimmung nicht lactonischer lipophiler Inhaltstoffe	55

2.2.3	Wasser und Dichlormethan als Extraktions- menstruum: Diskussion der unter 2.2.1 und 2.2.2 erhaltenen Ergebnisse	56
3	VERSUCHSTEIL	62
3.1	Allgemeine Angaben	62
3.1.1	Chromatographie	62
3.1.2	Spektroskopie	64
3.1.3	Optische Drehung	65
3.1.4	Schmelzpunktbestimmung	65
3.2	Spezielle Angaben	66
3.2.1	Herkunft der Drogen	66
3.2.2	Quantitative HPLC-Trennung der Kawapyrone	66
3.2.3	Halbquantitative DC-Bestimmung von Flavoka- win A und B mittels visueller Fleckenver- gleiche	72
3.2.4	Gaschromatographische Bestimmung von β -Sito- sterin	73
3.2.5	Untersuchung der Lipoidfraktion des Kawa- rhizoms auf das Vorkommen nicht lactonischer lipophiler Inhaltsstoffe	75
3.2.5.1	Herstellung eines Petroletherextraktes	75
3.2.5.2	Säulenchromatographische Auftrennung des Extraktes	76
3.2.5.2.1	Isolierung und Eigenschaften von Pinostrobin rac.	77
3.2.5.2.2	Isolierung und Eigenschaften von Flavokain B	78
3.2.5.2.3	Isolierung und Eigenschaften von S1	80
3.2.5.3	Rechromatographie von F'	81
3.2.5.3.1	Isolierung und Eigenschaften von S2	84
3.2.5.3.2	Isolierung und Eigenschaften von β -Sitosterin	85
3.2.5.3.3	Isolierung und Eigenschaften von Flavokawin A	86
3.2.6	Quantitative HPLC-Bestimmung der Kawapyrone in Wassermazeraten	87
3.2.7	Halbquantitative DC-Bestimmung von Flavo- kawin A und B in Wassermazeraten	91
3.2.8	Bestimmung von β -Sitosterin mittels Gaschro- matographie in Wassermazeraten	92

3.2.9	Bestimmung der Oberflächenspannung wäßriger Mazerate	93
3.2.10	Bestimmung der Sättigungskonzentration von Kawa-Reinstoffen in Wasser	94
3.2.11	Prüfung auf Saponine in der Droge	96
4	ZUSAMMENFASSUNG	98
5	LITERATURVERZEICHNIS	101
LEBENS LAUF		

1 AUSGANGSPUNKT UND ZIEL DER ARBEIT

1.1 DER KAWATRANK UND SEINE EIGENARTIGE ZUBEREITUNG

Unter den Drogen mit Wirkung auf das Zentralnervensystem fällt der Rauschpfeffer dadurch auf, daß er für den Genuß in einzigartiger Weise zubereitet wird. Das Rhizom wird in mundgerechte Bissen zerkleinert und von Mädchen oder Knaben gekaut, bis die Portion zu einem feinen Detritus geworden ist. Dabei wurde eine Methode entwickelt, möglichst wenig Speichel beizumengen oder hinunterzuschlucken. Die Bissen werden in eine Schale gespuckt, und mit Wasser verrührt und verknetet. Mit einem Hibiscusfaserbündel wird das Getränk von den Partikeln gesäubert und direkt nach der Zubereitung in polierte Kokosschalenhälften gefüllt (Fassungsvermögen 1/4 bis 1/3 l). Das Getränk wird an die in einem Kreis angeordnet sitzenden Männer verteilt; Frauen bildeneigene Trinkgesellschaften, sofern ihnen der Kawagenuß nicht ganz untersagt ist. Diese, für Europäer unhygienische Methode wurde unter dem Einfluß der Missionare verboten, so daß sich in diesen Regionen das Zerkleinern der Droge mit Steinen durchgesetzt hat (L.LEWIN, 1927; M.TITCOMB, 1948 und G.KOCH, 1981).

Oft hat man sich die Frage gestellt, welcher Sinn in der genuinen Zubereitung - den Detritus mit Speichel zu vermengen - liegt. In der vornaturwissenschaftlichen Ära wurden bekannte Pflanzen mit psychotroper Wirkung nicht nur entdeckt, sondern man fand auch ihre zweckmäßigste Zubereitungsform. Als klassi-

sche Beispiele gelten folgende Drogen: Cocablatt und Betel-
 naß werden mit Kalk vermischt gekaut, so daß die Alkaloidba-
 sen aus ihren Salzen freigesetzt werden und aufgrund ihrer
 Lipophilie buccal resorbiert werden können: Für Kaffee und
 Tee wurden die besten Zubereitungsformen gefunden, wenn man
 an die unterschiedlichsten Fermentationsweisen denkt,
 (E.STEINEGGER und R.HÄNSEL, 1972a.) Cohoba und Epena werden von
 südamerikanischen Indianern als Schnupfpulver verwendet; die
 Droge wird durch hohle Zweige und Röhrenknochen in die Nase
 geblasen und über die Nasenschleimhaut resorbiert. (R.E.
 SCHULTES, 1967 und G.J.SEITZ, 1967).

Ein naturwissenschaftlich faßbarer Hintergrund für die Herstellungs-
 weise des Kawatrankes wurde von früheren Beobachtern als Fermen-
 tationsprozeß erklärt. Sie vertraten die Meinung, es käme durch
 die Einspeichelung zur Freisetzung wirksamer Verbindungen aus
 unwirksamen Vorstufen. Gegen diese Ansicht läßt sich vorbringen,
 daß Speichelamylasen bestenfalls α -glycosidische Bindungen spal-
 ten, und um einen enzymatischen Prozeß oder gar Alkoholbildung
 in Gang zu setzen, die Einwirkungsdauer zu gering erscheint.
 (K.SCHÜBEL, 1924). Plausibler ist die zuerst von A.G. van VEEN
 (1938) vertretene Ansicht, es handle sich beim Kauen und Ein-
 speicheln um eine Art Aufschlußverfahren. Van VEEN beobachtete,
 daß von ihm isolierte Substanzen, an Tauben und Affen appliziert,
 nur dann zentral dämpfend wirkten, wenn die kristalline Substanz
 in feinster Verteilung in Gummi arabicum emulgiert, dem Versuchs-
 tier gegeben wird. Grob kristalline Suspensionen hingegen er-
 wiesen sich als unwirksam.

1.2 DIE WIRKUNG DES KAWATRANKES

Die Pflanze, die den Kawatrank liefert, wurde von FORST, der Cook auf seinen Reisen begleitete, als *Piper methysticum* bezeichnet (*methyskomai* griech. = sich berauschen). Es muß ausdrücklich hervorgehoben werden: Kawa ist keine Rauschdroge und versetzt auch in keinen Rauschzustand, wenn man unter Rausch einen aufs höchste gesteigerten, meist beglückend erlebten emotionalen Zustand versteht. Überdosierung führt zu ataktischen Zuständen, - d.h. zu unkoordinierten Bewegungen. Diese äußerliche Ähnlichkeit mag FORSTER zur Namensgebung veranlaßt haben. Kawa führt zu keinen psychischen Alterationen, Orientierungsverlusten, ungewohnten Wahrnehmungen, Erlebnissen oder Gefühlswirkungen. Nach lokalen Dialekten wird die Droge von den Eingeborenen als *ava*, *awa*, *kawa* oder *yagona* bezeichnet. Diese Wörter haben alle die gleiche Bedeutung wie die Adjektive *bitter*, *scharf*, *unangenehm* (G.KOCH, 1981).

Wie der Kawatrank eigentlich wirkt und warum die Kawazeremonie eine so große Rolle im sozialen, politischen und gesellschaftlichen Leben spielt, darüber gehen die Ansichten der Ethnomediziner auseinander. L.LEWIN (1927), der bekannte Toxikologe und Pharmakologe, beschreibt die Wirkung folgendermaßen: Die Kawatrinker werden nicht aggressiv oder streitsüchtig, wie es nach Alkoholgenuß häufig zu beobachten ist, vielmehr ruft Kawa ein Gefühl von Behaglichkeit und Zufriedenheit hervor, das psychische Spannungen löst und über Unglücksfälle hinweghilft. Bewußtsein und Vernunft bleiben jedoch stets erhalten.

Dem gegenüber stehen neuere Berichte von Wissenschaftlern, die das Kawatrinken im Selbstversuch erprobt haben. Danach kommt es zu keinen auffälligen Wirkungen (C.GAJDUSEK, L.D.HOLMES und C. FORD, 1967 und G.KOCH, 1981). Eine Wirkung kann allerdings auch der skeptische Beobachter nicht abstreiten, und zwar die Wirkung auf die Sinneswahrnehmungen Geruch und Geschmack. Der Kawatrank hat einen charakteristischen Geruch und Geschmack: Er schmeckt seifenartig und zunächst unangenehm (E.F.STEINMETZ, 1960). Die Mundschleimhäute werden "pelzig" wie nach einem Lokalanästhetikum aus der Gruppe der p-Aminobenzoeester. Das Mindeste, was man über die Wirkung des Kawatrankes sagen kann, ist zusammenfassend folgendes: Nach einiger Zeit entwickelt der Kawatrinker eine gewisse Vorliebe für Geruch und Geschmack des Getränkes, und das Trinken wird zum Gefühl der Entspannung.

1.3 ZUORDNUNG DER ZENTRALEN WIRKUNG ZU LACTONISCHEN INHALTSSTOFFEN

Die Wirkung des Kawatrankes, die man am einfachsten und somit auch am auffälligsten erkennt, ist die lokalanästhetische, nachweisbar durch das "Pelzig" werden der Zunge bei der Sinnesprüfung. In der Annahme, daß, ähnlich wie beim Cocain, das anästhesierende Prinzip mit dem zentralwirksamen (hier entspannend) identisch ist, gelang es anhand dieses Leitfadens - Lokalanästhesie - erstmals A.G. van VEEN (1938) einen Wirkstoff in reinster Form zu isolieren. Es handelt sich um das Dihydrokawain, von ihm "Marindinine" genannt, das bereits von W.BORSCHKE und W.PEITZSCH (1930) isoliert

und in seiner Konstitution aufgeklärt worden ist. A.G. van VEEN (1938) gelang es durch Applikation an Tauben und Affen nachzuweisen, daß Dihydrokawain in einen schlafähnlichen Zustand versetzt. Dieser Effekt ließ sich mit dieser Substanz aber nur erreichen, wenn sie dem Versuchstier feinst verteilt als Emulsion in Gummi arabicum gegeben wird. Mit der chemischen Untersuchung der Droge hat sich W.BORSCHKE von 1914 bis 1933 beschäftigt. So war bekannt, daß in der Droge eine Reihe weiterer Lactone vorkommen mit einem chemischen Aufbau, der dem Dihydrokawain ähnelt. In der Folge gelang es, weitere lactonische Inhaltsstoffe zu isolieren (*Abbildung 1*). Die Frage, die R.HÄNSEL und H.U.BEIERSDORF (1958 und 1959) vorlegten, ob die zentralnervensystem-dämpfende Wirkung für das Dihydrokawain spezifisch ist, oder ob auch den chemisch verwandten Pyronverbindungen eine Wirkung zukommt, wurde von diesen Autoren geklärt (1959). Danach wirken Dihydrokawain und Dihydro-methysticin sedierend, jedoch nicht Yangonin. Systematische pharmakologische Untersuchungen verdanken wir dem Freiburger Arbeitskreis am Pharmakologischen Institut H.J.MEYER (1960 bis 1966), die nach dessen Methoden von R.KRETZSCHMAR weitergeführt wurden. Aufgrund dieser eingehenden pharmakologischen Untersuchungen können wir heute sowohl die Zusammenhänge zwischen Konstitution und Wirkung, als auch das Wirkungsprofil dieser Substanzen aufzeigen. H.J.MEYER et al. konnten die lokalanästhetische Wirkung bestätigen. Bei der Prüfung der Oberflächenanästhesie ist Kawain die wirksamste Substanz und zeigt die

gleiche Grenzkonzentration und Wirkungsdauer wie Cocain, gefolgt von Dihydrokawain, Methysticin und Dihydromethysticin. Yanguonin hingegen zeigte in den durchgeführten Untersuchungen keine Wirkung (H.J.MEYER und H.U.MAY, 1964). In der Infiltrationsanästhesie (Quaddeltest am Meerschweinchen) zeigen die 5,6-Dihydro-Derivate eine geringere Wirksamkeit als in der Oberflächenanästhesie. Bemerkenswert ist die Gewebefreundlichkeit der Pyrone, so daß selbst bei wiederholter Anwendung es zu keiner Gewebeschädigung kommt (H.U.MAY und H.J.MEYER, 1965).

Eine bekannte Eigenschaft der Lokalanästhetika ist ihre negativ inotrope und negativ chronotrope Wirkung. Die 5,6-hydrierten Pyrone verhalten sich bezüglich Spontanaktivität und elektrischer Erregbarkeit weitgehend wie Lokalanästhetika in Konzentrationen ab 10^{-5} g/ml (R.KRETZSCHMAR und H.J.MEYER, 1968).

Das Wirkungsbild der sechs Kawapyrone im Tierversuch an verschiedenen Spezies unterscheidet sich nur in quantitativer, nicht jedoch in qualitativer Hinsicht (R.KRETZSCHMAR und H.J.TESCHENDORF, 1974). Mit steigender Dosierung der Substanzen werden zunehmend zentrale Lähmungserscheinungen beobachtet, beginnend mit motorischer Inaktivierung und Relaxation der Skelettmuskulatur bei unbeeinflusster Atmung; hohe Dosen führen zum Verlust von Haltere reflexen bis zur vollständigen Seitenlage (H.J.MEYER, 1962 ; H.J.MEYER und R.KRETZSCHMAR 1966). Beachtlich ist, daß Aufmerksamkeitszeichen bis zum letalen Dosisbereich hin erhalten bleiben und somit eine echte Narkose ausgeschlossen wird (W.KRETZSCHMER, 1970).

Die Prüfung der Pyrone auf spinale Reflexe zeigte, daß tonische Dehnungsreflexe am empfindlichsten waren. Fremdreflexe wurden erst in höheren Dosen gehemmt, als tonische Dehnungsreflexe. Monosynaptische Massenreflexe (z.B. Patellarsehnenreflex) bleiben im Gegensatz zu Narkotika unbeeinflusst, die Nerv-Muskel-Übertragung wird nicht gehemmt. Die Wirkung der Kawapyrone entspricht somit dem Mephenesin, dessen Angriffspunkt die *Formatio reticularis* des Hirnstamms ist (H.J.MEYER und R.KRETZ-MAR, 1969).

Charakteristisch ist die antagonistische Wirkung gegen experimentell hervorgerufene Krämpfe (Elektroschock, Cardiazolkrampf, Strychninkrampf). Im maximalen Elektroschock und Pentetrazolkrampf gleicht die Wirkung der 5,6-Dihydro-Derivate im Hinblick auf Wirkungsdauer und Beeinflussung des Krampfablaufs derjenigen von Lokalanästhetika und unterscheidet sich bezüglich der Dosis-Wirkungscharakteristik nur unwesentlich von den bekannten Anticonvulsiva Phenobarbital und Phenylhydantoin. Yangonin unterscheidet sich von den 5,6-hydrierten Pyronen, indem es auch die klonische Krampfphase hemmt, jedoch wurden bis zur höchsten geprüften Yangonindosis klonische Pentetrazolkrämpfe nie vollständig aufgehoben. Die Unterschiede zwischen den wirksamen Dosen sind bei intravenöser Applikation nur gering, während sie bei intraperitonealer und peroraler deutlich erkennbar sind: $M > DHM \sim K > DHK \gg DMY > Y$. Die quantitativen Unterschiede sind als Folge verschiedener Resorptions- und Eliminationsgeschwindigkeiten zu sehen. Bemerkenswert ist die Beeinflussung

des Strychninkrampfes: Im Vergleich zum Mephenesin sind die Pyrone erheblich wirksamer, wobei Methysticin die stärkste strychninantagonistische Wirkung zeigt. Ein ähnlich starker Antagonismus ist von den klassischen muskelrelaxierenden, aber nicht narkotisch wirksamen Substanzen unbekannt (Propandiole, 1,4-Benzodiazepine H.J.MEYER, 1964; H.J.MEYER und J.MEYER-BURG, 1964; R.KRETZSCHMAR und H.J.MEYER, 1965a,b, 1969; R.KRETZSCHMAR, H.J.MEYER, H.J.TESCHENDORF und B.ZÖLLNER, 1969).

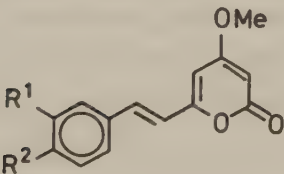
Wie sonstige Muskelrelaxantien verstärken und verlängern die Kawapyronedie Wirkung verschiedener Narkotika, wie Hexobarbital, Distickoxid und Ether (H.J.MEYER, 1962; H.J.MEYER und R.KRETZSCHMAR, 1966).

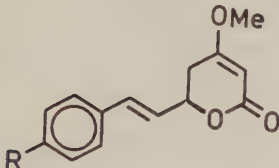
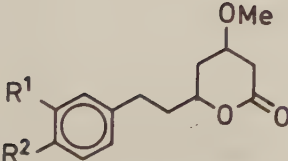
Die erwähnte beruhigende, psychisch relaxierende und schlafbereitende Wirkung des Kawatrankes (Abschnitt 1.2) beruht demnach mit großer Wahrscheinlichkeit auf der zentral muskelrelaxierenden, der sedativen und tranquillisierenden Eigenschaft der Pyronverbindungen (R.KRETZSCHMAR und H.J.TESCHENDORF, 1974).

1.4 ZIEL DER EIGENEN UNTERSUCHUNGEN

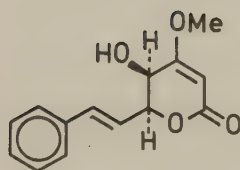
Im vorhergehenden Abschnitt 1.3 wurde der gegenwärtige Stand der Kenntnisse zum Wirkungsprofil der Kawapyrone referiert. Die Ergebnisse resultieren aus tierexperimentellen Studien mit reinen, isolierten Einzelstoffen, die in öligiger Lösung, in der Regel parenteral Tieren appliziert wurden. Die Beobachtungen der Wirkungen am Menschen (s. Abschnitt 1.2) wurden nach Verabrei-

chung eines Kaltwasserauszuges erzielt. Es wurde bereits darauf hingewiesen, daß die Kawalactone in Wasser schwerlösliche Verbindungen darstellen. Deshalb ist es unzulässig, ohne nähere Überlegungen von der Wirkung im Tierversuch auf die Wirksamkeit des Kawatrankes beim Menschen zu schließen. Bisher fehlt jegliche genaue Untersuchung darüber, ob Kawalactone aus der Droge mit kaltem Wasser extrahierbar sind, und ob mit einer Schale des üblichen Kawatrankes eine wirksame Dosis an Lactonen dem Menschen zugeführt werden kann. Genau aber das ist das Ziel der vorliegenden Arbeit, zu prüfen, in welchen Konzentrationen die lipophilen Lactone aus der Droge in den Kaltwasserauszug des Kawatrankes gehen. Erst die pharmazeutische Analyse des Getränkes erlaubt es, eine beweisende Brücke zwischen den ethnologischen Beobachtungen einerseits und den pharmakologischen Experimenten andererseits zu schlagen.

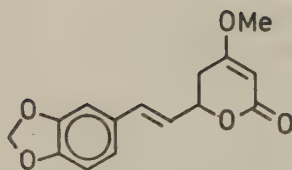
Nr. Substanz	Trivial- bezeichnung	Literatur
		
1 R ¹ = H, R ² = H	Desmethoxy- yangonin (DMY)	KLOHS, M.W., KELLER, F., WILLIAMS, R.E., TOEKES, M.I. und CROHNHEIM, G.E., 1959; KLOHS, M.W., KELLER, F. und WILLIAMS, R.E., 1959, GOTTLIEB, O.R. und MORS, W.B., 1959.
2 R ¹ = H, R ² = OMe	Yangonin (Y)	NÖLTING, E. und KOPP, 1874; BORSCHE, W. und LEWINSOHN, M., 1933; WINZHEIMER, E., 1908; CHMIELEWSKA, I., CIES- LAK, J., et al., 1958; BU'LOCK, J.D. und SMITH, H.G., 1960.
3* R ¹ = OMe, R ² = OMe	11-Methoxy- yangonin	HÄNSEL, R. und KLAP - ROTH, L., 1966.

Nr. Substanz	Trivial- bezeichnung	Literatur
	Kawain (K)	BORSCHÉ, W. und PEITZSCH, W., 1930.
	7,8-Dihydro- kawain (DHK)	BORSCHÉ, W. und PEITZSCH, W., 1930; VAN VEEN, A.G., 1938; HÄNSEL, R. und BEIERSDORFF, H.U., 1958
5 $R^1 = H$, $R^2 = H$		
6* $R^1 = H$, $R^2 = OMe$	5,6,7,8-Tetra- hydroyangonin	HÄNSEL, R. und KLAPROTH, L., 1966; ACHENBACH, H., KARL, W. und SMITH, S., 1971.

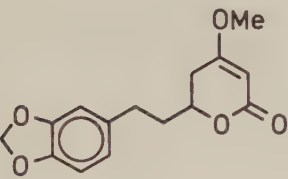
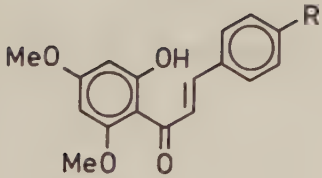
Nr. Substanz	Trivial- bezeichnung	Literatur
7* $R^1 = \text{OMe}$, $R^2 = \text{OMe}$	11,12-Dimethoxy-dihydrokawain	ACHENBACH, H., KARL, W. und REGEL, W., 1972.
8* $R^1 = \text{OH}$, $R^2 = \text{OMe}$	11-Hydroxy-12-methoxy-dihydrokawain	ACHENBACH, H., KARL, W., REGEL, W., 1972.



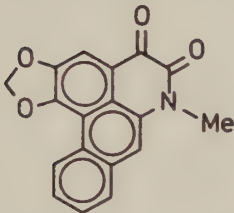
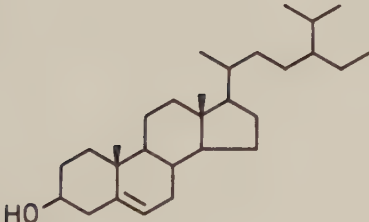
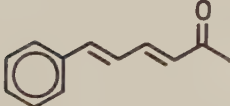
9*	cis-Dihydrokawainol-5	ACHENBACH, H., WITTMANN, G., 1970.
----	-----------------------	---------------------------------------



10	Methysticin (M)	CUZENT, G., 1861; GOBLEY, N.T., 1860; O'RORKE, M., 1860; POMERANZ, C., 1889; WINZHEIMER, E., 1908; BORSCHKE, W., MEYER, C.H., PEITZSCH, W. 1927.
----	--------------------	--

Nr. Substanz	Trivial- bezeichnung	Literatur
 11	Dihydro- methysticin	BORSCH, W., und PEITZSCH, W., 1929; HÄNSEL, R. und BEI- ERSDORF, H.U., 1958.
	Flavokawin B	HÄNSEL, R., BÄHR, P. und EHLICH, J., 1961; HÄNSEL, R., RANFT, G. BÄHR, P., 1963.
13 R = OMe	Flavokawin A	HÄNSEL, R., BÄHR, P. und EHLICH, J., 1961; HÄNSEL, R., RANFT, G. und BÄHR, P., 1963.

Nr.	Substanz	Trivial- bezeichnung	Literatur
14*	R = OH	Flavokawin C	DUTTA, C.P., RAY LALA, P.K. und CHATTERJEE, A., 1972 und 1973.
15*	R¹ = OH, R² = H	Pinostrobin rac.	CHUANG, C., 1979,
16*	R¹ = OMe, R² = OMe	Trimethoxy- flavanon rac.	CHUANG, C., 1979.
17*	R = H	Zimtsäure- pyrrolid	ACHENBACH, H. und KARL, W., 1970.
18*	R = OMe	m-Methoxy-zimt- säurepyrrolid	ACHENBACH, H. und KARL, W., 1970.

Nr. Substanz	Trivial- bezeichnung	Literatur
	Cepharadion A	CHUANG, C., 1979.
19*		
	β -Sitosterin	CHUANG, C., 1979.
20		
	Cinnamoylaceton JÖSSANG, P., MOLHO, D., 1967.	
21*		

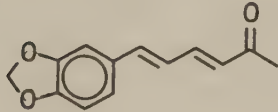
Nr.	Substanz	Trivial- bezeichnung	Literatur
22*		3,4-Dioxymethyl- lencinnamoyl- aceton	JÖSSANG, P. und MOLHO, D., 1967.

Abb. 1: Übersicht bisher isolierter Inhaltsstoffe aus
Piper methysticum

*nicht quantitativ bestimmt

2 DER KAWATRANK ALS WASSERMAZARAT

2.1 ALLGEMEINES

Im Abschnitt 1.1 wurde die eigenartige Zubereitung des Kawatranks referiert. Danach stellt das Getränk im pharmazeutischen Sinne ein Wassermazarat dar. Bekanntlich versteht man unter einer Mazeration eine Extraktion der Droge bei Raumtemperatur, im Gegensatz zur Digestion, die bei höheren Temperaturen durchgeführt wird. (R.VOIGT, 1975). In nahezu sämtlichen Kulturen wurden Drogen dadurch extrahiert, daß die Extraktion mit heißem Wasser vorgenommen wurde. Der Medizinaltee ist die einfachste und wohl älteste Zubereitung von Heilpflanzen. Warum die Polynesier die Kawadroge mit kaltem Wasser extrahierten, dafür bieten sich zwei Erklärungsmöglichkeiten an! Als Angehörige einer Steinzeitkultur fehlten ihnen die technischen Möglichkeiten, sich einen Tee aufzubrühen. Wenn aber auch die technischen Voraussetzungen vorhanden gewesen wären, so wäre doch in einer Gesellschaft, die Alkohol nicht kannte, das Mazerieren mit Wasser die einzige Zubereitungsweise gewesen, und zwar aus folgendem Grund: Die Kawadroge enthält viel Stärke, die mit heißem Wasser zu einem Kleister verquillt und dadurch die Extraktion von Drogeninhaltsstoffen weitgehend verunmöglicht, abgesehen davon, daß ein Kleister nicht trinkbar ist. Die Nichtsteinzeitkulturen haben neben den wäßrigen Auszügen eine Reihe anderer Drogenzubereitungen entwickelt: Weinige, die den wäßrigen Auszügen relativ nahe stehen, alkoholo-

lische Auszüge und Destillate. Da eine Droge eine unbekannte, aber sicher große Anzahl chemisch unterschiedlicher Extraktivstoffe enthält, ist die chemische Zusammensetzung des Galenikums selbstverständlich von der Zubereitungsweise abhängig. In der Regel wurden Drogenauszüge oral, seltener lokal (äußerlich) angewandt. Bei oraler Applikation gelangen nur Stoffe ins Zentralnervensystem, die eine gewisse Lipoidlöslichkeit haben; mit Alkohol wird man in der Regel einen höheren Anteil an lipoidlöslichen Stoffen extrahieren als mit kaltem Wasser. Aus dem Umstand, daß die Lipoidlöslichkeit eine Voraussetzung für die Resorption ist, darf jedoch nicht geschlossen werden, daß eine Resorption aus dem Magen-Darmtrakt erfolgt, je stärker lipophil bzw. hydrophob der Wirkstoff ist.

Für die Resorption ist auch die absolute Löslichkeit in Wasser ein entscheidender Parameter, was auch schon den alten Alchemisten bekannt war: "CORPORA NON AGUNT, NISI SOLUT". Um nämlich an den Wirkort zu gelangen, muß der betreffende Wirkstoff mit dem Milieu Wasser in Wechselwirkung treten (W.SCHELER, 1980). Bei lipophilen Reinstoffen spielt zusätzlich zur Löslichkeit in Wasser auch die Lösungsgeschwindigkeit eine entscheidende Rolle, die wiederum vom Aggregatzustand, der Größe und Form der Kristalle abhängt. Während der Magen-Darm-Passage kann nur derjenige Teil resorbiert werden, der sich zuvor in Wasser gelöst hat. Kavalactone neigen dazu, sehr schöne und große Kristalle auszubilden. Appliziert man einem Versuchstier diese Kristalle als Suspension oral, so gelangt kein nennens-

werter Anteil zur Resorption. Damit findet auch ein überraschender, geschichtlicher Tatbestand eine Erklärung. W.BORSCHKE, der von 1914 bis 1933 mit der Isolierung und Konstitutionsaufklärung der Kawalactone beschäftigt war, schreibt in seiner letzten Mitteilung, daß es ihm nicht gelungen sei auch nur einen Wirkstoff aufzufinden. Und doch waren, wie R.KRETZSCHMER (1974) nachweisen konnte, alle isolierten Lactone pharmakologisch aktiv. Offensichtlich hat W.BORSCHKE nicht erkannt, daß die Wirkung einer Substanz nicht nur eine Funktion der chemischen Konstitution ist, sondern, daß sie ganz entscheidend von der Zubereitungs- und Anwendungsart abhängt. Man faßt diese Parameter heute unter dem Begriff Bioverfügbarkeit zusammen.

Zurück zur Problematik des Kawatrankes und der Extrahierbarkeit lipophiler Kawalactone mit Wasser. Man kann von den Mischungen der Reinstoffe als Modell ausgehen und das Problem der Extrahierbarkeit aus Kristallgemischen und das Problem der Wasserlöslichkeit studieren. Orientierende Untersuchungen liegen von L.CSUPOR und W.SPAICH (1971) vor. Diese Modellversuche imitieren aber nur sehr unvollständig den Kawatrank, denn es kommen als wesentliche Faktoren hinzu: 1. Das Problem des Aufschließens; die Kawalactone liegen in Exkretträumen vor als Idioblasten, wie weit dringt Wasser überhaupt in diese Gewebe, die schwer benetzbar sind und 2. spielen hier im komplizierten System der Drogenextraktion sicher Lösungsvermittler eine Rolle. Pflanzliche Lösungsvermittler sind Saponine, Prote-

ine und hochpolymere Kohlehydrate. Lösungsvermittler sind oberflächenaktive Verbindungen, die schlecht wasserlösliche oder sogar wasserunlösliche Substanzen in Lösung überführen, ohne deren chemische Struktur zu verändern. Die Lösungsvermittlung ist an die notwendige Existenz eines kolloidalen Systems gebunden, dessen Teilchen, den sonst unlöslichen Stoff inkorporieren oder an der Oberfläche absorbieren. Der Solubilisationsvorgang ist eine Ausbildung von Molekülaggregaten, den Micellen, die in Lösung oberflächenaktiver Substanzen oberhalb der "kritischen Micellkonzentration" entstehen. Ein entscheidendes Kriterium für die Lösungsvermittlung ist somit die Herabsetzung der Oberflächenspannung (R.VOIGT, 1975 ;W.DRÖSELER und R.VOIGT, 1967).

2.2 WELCHE LIPOPHILEN KAWAINHALTSSTOFFE SIND MIT WASSER MAZERIERBAR: VERGLEICHENDE UNTERSUCHUNGEN VON WASSER- MAZERAT UND DICHLORMETHANEXTRAKT

Der Kawatrank der Polynesier stellt, in pharmazeutischer Fachsprache ausgedrückt, ein Wassermazerat dar. Das mit dieser Zubereitungsweise verknüpfte Problem sei noch einmal kurz formuliert: Stoffe mit zentraler Wirkung müssen, um an den Wirkort im Zentralnervensystem zu gelangen, eine gewisse Lipoidlöslichkeit aufweisen: Nur lipophile, nicht hingegen hydrophile Stoffe sind imstande, die Blut-Hirn-Schranke zu passieren. Nach Untersuchungen von H.J.MEYER (1960 bis 1966) sowie von

R.KRETZSCHMER et al. (1974) kommen in der Kawadroge in der Tat lipophile Stoffe vor, die zentralnervöse Wirkung aufweisen. Nun liegt es aber im Wesen lipophiler Stoffe, daß sie in kaltem Wasser nicht oder nur sehr schwer löslich sind. Daher ist es fraglich, ob es bei dem in Polynesien üblichen Mazerationungsverfahren gelingt, lipophile Inhaltsstoffe aus der Droge in den Kawatrank zu überführen; dies ist um so fraglicher, als die Extraktionsdauer (10 bis 20 Minuten) verhältnismäßig kurz ist. Im Rahmen der vorliegenden Arbeit sollte daher untersucht werden,

- im positiven Fall: um welche lipophilen Stoffe es sich handelt,
- und in welchen Konzentrationen sie im Wassermazerat vorliegen.

Als lipophile Drogeninhaltsstoffe gelten für die Zwecke der vorliegenden Untersuchung diejenigen Extraktivstoffe des Kawarhizoms, die mit Dichlormethan extrahierbar sind. Dieser Zielsetzung entsprechend wird im Abschnitt 2.2.1 über die Zusammensetzung des Dichlormethanauszuges berichtet, im Abschnitt 2.2.2 über die Zusammensetzung des Wassermazerats. Dieses vergleichende Vorgehen hat den Vorteil, daß man zuzüglich Information darüber erhält, welcher Prozentsatz der in der Droge vorkommenden lipophilen Stoffe - abhängig auch von der Konstitution der Stoffe - mit Wasser extrahierbar ist.

2.2.1 Chemische Zusammensetzung des Dichlormethanauszuges

Die Kawadroge ist im Verlauf der letzten 100 Jahre von mehreren Arbeitskreisen auf ihre chemische Zusammensetzung hin untersucht worden. Neben ubiquitären Inhaltsstoffen wie Stärke, Schleimstoffe und Zucker wurden zahlreiche sog. "sekundäre Pflanzenstoffe" gefunden. Auffallend ist, daß diese Sekundärstoffe bevorzugt lipophilen Charakter tragen. In anderen Drogen überwiegen Sekundärstoffe in glycosidischer Bindung: Glykoside kommen allem Anschein nach im Kawarhizom nicht vor. Die *Abbildung 1* bringt eine Übersicht über die bisher aus der Kawadroge isolierten Inhaltsstoffe. Allerdings liegen einige der dort aufgeführten Stoffe in nur sehr geringen Konzentrationen vor. Die Neben- und Spurenstoffe wurden, als für die Wirkstofffrage irrelevant, nicht quantitativ bestimmt.

2.2.1.1 Quantitative Bestimmung bereits bekannter Kawainhaltsstoffe

Der Dichlormethanauszug des Kawarhizoms enthält mengenmäßig dominierend die folgenden Stoffe:

Desmethoxyyangonin (1)

Yangonin (2)

Kawain (4)

Dihydrokawain (5)

Methysticin (10)

Dihydromethysticin (11)

Flavokawin A (13)

Flavokawin B (12)

β -Sitosterin (20)

C.CHUANG (1979) hat in einer sehr sorgfältigen Untersuchung den Nachweis geführt, daß weitere Stoffe zwar analytisch nachweisbar sind, daß sie aber in sehr geringen Konzentrationen vorliegen. Daher wurde die quantitative Bestimmung auf die oben aufgeführten Stoffe beschränkt. An der Drogengesamtwirkung können im wesentlichen nur Inhaltsstoffe beteiligt sein, die in pharmakologisch wirksamen Konzentrationen vorliegen. Nimmt man als "Vergleichszahl" das hochwirksame Morphin, dessen Einzeldosis 30 mg p.o. beträgt; nimmt man ferner an, daß die Einzeldosis beim Kawatrank etwa 30 g Droge (Rhizoma Kawa-Kawa) entspricht, dann sollte ein an der Wirkung beteiligter Inhaltsstoff mindestens in der Konzentration von 0.1 Prozent vorliegen. Zum Vergleich: Rohopium enthält etwa 10 Prozent Morphin, die Belladonnablätter enthalten 0.3 Prozent Alkaloide.

2.2.1.1.1 Trennung und quantitative Bestimmung der Kawalactone mittels HPLC

Methoden zur quantitativen Bestimmung der Kawapyrone stehen nicht in großer Anzahl zur Verfügung. Eine besondere Schwierigkeit liegt darin, daß ein Gemisch chemisch ähnlicher Pyrone vor-

liegt, die sich nur schwer voneinander trennen lassen. Die ersten brauchbaren Methoden sind von L.COCLERS (1969), R.L.YOUNG (1966) und L.CSUPOR (1970) et al. entwickelt worden. Nach der Trennung werden die Zonen entsprechender Pyrone extrahiert, die Konzentrationen werden entweder spektralphotometrisch direkt (L.COCLERS, 1969; R.L.YOUNG, 1966) oder nach Zusatz eines chromogenen Reagenses (H_2SO_4 /Anisaldehyd) gemessen (L.CSUPOR, 1970). Der Nachteil dieser Methoden liegt darin, daß die Trennschärfe der DC nicht ausreicht, alle relevanten Kawapyrone zu trennen: Es kommt zur Überlagerung von Flecken und dadurch bedingt zu Fehlern. Das gaschromatographische Verfahren erwies sich insofern als ungeeignet, als die Pyrone pyrolyseempfindlich sind. Dies trifft insbesondere für das Methysticin zu (R.M.SMITH, 1983). Die Methode der Wahl ist die von L.GRACZA und P.RUFF (1980) entwickelte HPLC-Methode (Kieselgel als stationäre und Dioxan/Hexan als mobile Phase). Diese Methode wurde mit geringfügigen Änderungen für die Zwecke der vorliegenden Untersuchung übernommen. Anstelle von Zimtalkohol, der bei Raumtemperatur flüssig ist, wurde Veratrumaldehyd als innerer Standard verwendet. Das Trennsystem mußte den speziellen apparativen Gegebenheiten angepaßt werden (Erhöhung der Polarität). Wie *Abbildung 2* erkennen läßt, erlaubt die Methode eine saubere Basislinientrennung.

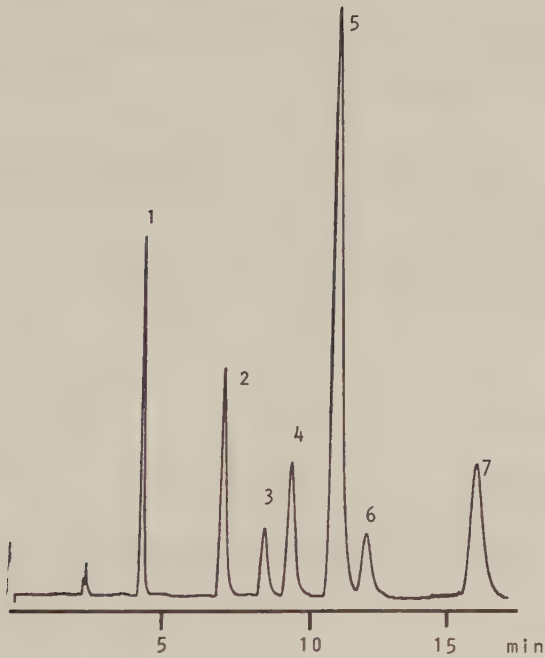


Abb. 2: Trennung der Kawalactone (Modellgemisch)

1 = Standard (Veratrumaldehyd), 2 = Desmethoxyyangonin,
3 = Dihydrokawain, 4 = Yangonin, 5 = Kawain, 6 = Dihy-
dromethysticin, 7 = Methysticin

Säule: Si 100, 7 μm , 250 mm Länge, Elution: Dioxan/He-
xan (18 + 82), Flußrate 2 ml/min 130 bar, Detektion:
UV 250 nm, Empfindlichkeit: 0.64 E, Papierschreiberge-
schwindigkeit: 0.5 cm/min

Aufgrund der Analyse eines Modellgemisches (s. *Abbildung 2*) wurden die folgenden relativen Standardabweichungen gefunden (s. dazu auch Versuchsteil 3.2.2.1)

Substanz	relative Standardabweichung (%)
Desmethoxyyangonin	3.2
Dihydrokawain	2.3
Yangonin	3.1
Kawain	2.8
Dihydrokawain	3.5
Methysticin	4.1

Abbildung 3 zeigt die relative Standardabweichung eines Modellgemisches

Ergebnisse der Drogenuntersuchung

Analysiert wurden drei Drogenchargen unterschiedlicher

Provenienz: Samoa-, Viti-, Hawaii-Inseln. Die Ergebnisse sind in *Abbildung 4* zusammengefaßt.

Substanz	Gehalt (%)			
	Viti	Samoa	Hawaii	Handelsware*
Kawain	1.80	2.14	1.18	0.93
Dihydrokawain	0.56	1.04	0.64	1.05
Methysticin	1.70	1.99	1.20	1.34
Dihydromethysticin	0.50	0.83	0.72	0.85
Yangonin	1.04	1.74	0.98	0.68
Desmethoxyyangonin	0.98	0.57	0.78	nicht gemessen

Abb. 4: Gehalt an Kawapyronen von Kawadrogen unterschiedlicher Provenienz. Zum Vergleich: Analyse von Handelsware (L. Gracza und P. Ruff, 1980)

Demnach enthält das Kawarhizom zwischen 5.5 und 8.3 Prozent Gesamtpyrone. Davon entfallen auf die Yangoninderivate (Yangonin, Desmethoxyyangonin) etwa 30 Prozent. Dieses Ergebnis der HPLC-Messungen stimmt recht gut überein mit älteren Ergebnissen, die auf der Isolierung der Stoffe beruhen (R. KRETZSCHMAR und H. J. TESCHENDORF, 1974; R. HÄNSEL und H. U. BEIERSDORF, 1958; F. KELLER, R. E. WILLIAMS, M. I. TOEKES und G. E. CRONHEIM, 1959). Da die Yangoninderivate bei oraler Anwendung so gut wie unwirksam sind, interessiert der Gehalt an Pyronen vom Kawain-Dihydrokawain-Typ: Er beträgt im arithmetischen Mittel 4.8 Prozent.

Insgesamt ist die Variabilität des Gehaltes an Pyronen überraschend gering. Dies ist um so erstaunlicher, als es sich bei *Piper methysticum* um eine Pflanzenart mit einem weiten Verteilungsareal (ca. 66 Mill. km²) über ganz Polynesien*, Teile Mikronesiens und Melanesiens handelt. Festgestellt wurden nur quantitative, nicht aber qualitative Unterschiede im Pyronspektrum. Hinweise auf sog. chemische Rassenbildung wie sie bei Arzneipflanzen häufig ist, (z.B. bei *Duboisia myoporoides* mit seinen variierenden Auftreten von Hyoscyamin und Scopolamin) werden somit nicht gefunden (E.STEINEGGER und R.HÄNSEL, 1972b).

* Ausnahme Osterinseln und Neuseeland

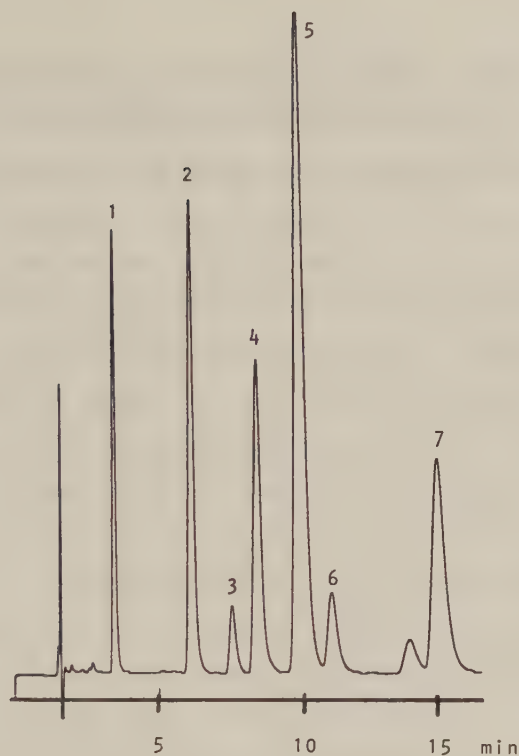


Abb. 5: HPLC-Trennung eines Dichlormethan-Extraktes zur Bestimmung der Kawalactone

1 = Standard (Veratrumaldehyd), 2 = Desmethoxyyangonin, 3 = Dihydrokawain, 4 = Yangonin, 5 = Kawain, 6 = Dihydromethysticin, 7 = Methysticin

Säule: Si 100, 7 μm , 250 mm Länge, Elution: Dioxan/Hexan (18 + 82), Flußrate: 2 ml/min 130 bar, Detektion: UV 250 nm, Empfindlichkeit 0.64 E, Papierschreibergeschwindigkeit: 0.5 cm/min

2.2.1.1.2 Bestimmung der Chalkone (Flavokawine) durch quantitative Auswertung von Dünnschichtchromatogrammen

Bei der DC eines Dichlormethanauszuges der Kawadroge (Kieselgel, Ethylacetat/Cyclohexan 20 + 80) beobachtet man im oberen hRf-Bereich ($hRf = 30$ und 24) beim Betrachten im langwelligen UV zwei stark löschende Flecken. Es handelt sich um die zuerst von R.HÄNSEL, P.BÄHR und R.RANFT (1961 und 1963) isolierten Flavokawine A (13) und B (12). Der Gehalt an Flavokawinen wurde mittels visueller quantitativer Auswertung von Dünnschichtchromatogrammen nach der sog. Vergleichsmethode bestimmt (E. Merck). Flecke steigender Konzentration (Verdünnungsreihe entspricht 10 bis 70 μ l des Drogenextraktes [1 : 1, d.h. 1 ml Lösung entspricht 1 g Droge]) wurden chromatographiert und mit Flecken bekannter Konzentration verglichen (visuelle Betrachtung vor der Analysenquarzlampe mit Emissionsmaximum 366 nm). Die Ergebnisse sind in *Abbildung 6* zusammengefaßt.

Droge (Provenienz)	Flavokawine (g/100 g)	
	Flavokawin A	Flavokawin B
Viti	0.05	0.02
Hawaii	0.06	0.01
Samoa	0.06	0.02

Abb. 6: Gehalt an Flavokawin A und Flavokawin B in Kawadrogen unterschiedlicher Provenienz, Methode: DC-Trennung und Vergleich der Fleckengröße, Co-Chromatographie authentischer Reinstoffe unterschiedlicher Konzentrationen

Die Flavokawine sind im Kwarhizom zu rund 0.1 Prozent enthalten. Sie gehören demnach schon der Konzentration nach zu den pharmakologisch wenig interessanten Inhaltsstoffen.

2.2.1.1.3 Gaschromatographische Bestimmung von β -Sitosterin

β -Sitosterin gehört zu den im Pflanzenreich am häufigsten vorkommenden Inhaltsstoffen. Es wurde aus *Piper methysticum* zuerst von C.CHUANG (1979) in einer Menge von 100 mg aus 3 kg Droge isoliert, was einer präparativen Ausbeute von 0.003 % entspricht. Im allgemeinen ist β -Sitosterin in höherer Konzentration enthalten, so daß eine quantitative Messung des Gehaltes interessierte. Zur quantitativen Bestimmung gibt es eine Reihe von Möglichkeiten, die entweder auf der Farbentwicklung mit konzentrierten Säuren oder auf der Umsetzung der alkoholischen Gruppe zu farbigen Estern beruhen (B.KACAC und J.VEJDELEC, 1974 und 1977). Eine direkte photometrische Auswertung ist nicht möglich, da β -Sitosterin im UV unter 210 nm absorbiert. Bekanntlich kommt β -Sitosterin häufig zusammen mit nahe verwandten Sterinen, insbesondere Campesterin und Stigmasterin vor, die sich dünnschichtchromatographisch nur sehr schlecht trennen lassen. Eine genauere Methode ist daher die Gaschromatographie, die eine gute Trennung der Stoffe ermöglicht. Die gaschromatographische Bestimmung wurde in Anlehnung an die Methode von E.E.HOMBERG und A.SEHER (1977) durchgeführt. Die experimentel-

len Bedingungen wurden den apparativen Gegebenheiten angepaßt und entsprechen weitgehend den in der Literatur angegebenen Daten.

Methodisches

Vorbereitung der Probe

10 g Drogenpulver wurden mit 3x 100 ml Dichlormethan extrahiert; nach Filtration wurden die vereinigten Extrakte eingengt und in genau 10 ml Chloroform aufgenommen. Die Einspritzmenge betrug 5 µl. Chromatographiebedingungen (s. Versuchsteil 3.2.4 und Legende zur *Abbildung 7*). Auswertung: Flächenintegration nach der Näherungsmethode (G.SCHWEDT, 1979).

Authentisches β -Sitosterin als externer Standard (221.6 mm entsprechen 0.003 mg β -Sitosterin). In der *Abbildung 7* sind die Ergebnisse zusammengefaßt.

Droge (Provenienz)	Gehalt (g / 100 g)
Viti	0.016
Hawaii	0.008
Samoa	0.008

Abb. 7: β -Sitosteringehalt in Kawadrogen unterschiedlicher Provenienz. Methode: GC (Glassäule, Chromosorb als stationäre und Silicon OV-17 als flüssige Phase, Trägergas N₂)

Das Rhizom Kawa-Kawa enthält demnach etwa 0.01 Prozent β -Si-

tosterin. Dieses Ergebnis der gaschromatographischen Messung stimmt größenordnungsmäßig überein mit der Menge, die C.CHUANG (1979) präparativ aus der Droge isoliert hat.

2.2.1.2 Nachweis und Identifizierung neuer lipophiler Nebenstoffe

Nach J.P.BUCKLEY (1967) und M.J.O'HARA (1965) et al. soll man eine pharmakologisch aktive Fraktion aus der Kawadrogen erhalten, daß die Droge einer Wasserdampfdestillation unterzogen wird. Nur lipophile Stoffe lassen sich bekanntlich mit Wasserdampf abtrennen. Dem Hinweis dieser Autoren wurde insofern nachgegangen, als eine Petroletherfraktion, die erfahrungsgemäß den durch Wasserdampfdestillation erhältlichen "etherischem Öl" entspricht, auf die chemische Zusammensetzung hin untersucht wurde. Die Methode der Wahl zur Isolierung lipophiler Stoffe ist die Adsorptionschromatographie. Durch Adsorptionschromatographie eines Petroletherauszuges an Kieselgel wurden die in *Abbildung 8* aufgeführten Substanzen isoliert. Alle Substanzen sind als Naturstoffe bekannt; im Falle des Stigmast-4-en-3,6-dion und den 5-OH-4',7-Dimethoxyflavanon handelt es sich um zwei für diese Droge noch nicht beschriebene Stoffe. (Konstitutionsaufklärung s. Abschnitt 2.2.1.2.1 und Abschnitt 2.2.1.2.2)

isoliert aus Fraktion Petrolether/Ethylacetat (v/v)	Ausbeute	isoliert und identifiziert als
95 + 5	52 mg	Pinostrobin rac.
90 + 10	110 mg	Flavokawin B
90 + 10	30 mg	5-OH-4',7-Dimethoxyflavanon rac.*
90 + 10	50 mg	Stigmast-4-en-3,6-dion
85 + 15 bis 75 + 25	55 mg	β -Sitosterin*
	350 mg	Flavokawin A*

Abb. 8: Übersicht über die aus dem Petroletherextrakt der Kawadroge säulenchromatographisch isolierten Inhaltsstoffe

* durch Rechromatographie erhalten.

2.2.1.2.1 Isolierung eines Steroids und Identifizierung als Stigmast-4-en-3,6-dion

Nach Umkristallisieren aus Methanol/Ether fielen gelbe, glänzende Plättchen aus, die bei 166 - 168 °C schmelzen. Die positive Liebermann-Burchard-Probe weist auf das Vorliegen eines Steroids hin. Durch Aufnahme eines hochaufgelösten Massenspektrums konnte aus dem Molpeak ($M^+ = 426.3533$) die Bruttoformel $C_{29}H_{46}O_2$ entnommen werden, und die Anzahl der Doppelbindungsäquivalente errechnet werden. Von den sieben Doppelbindungsäquivalenten entfallen vier auf das tetracyclische Steroidgrundgerüst, so daß noch drei Doppelbindungsäquivalente zuzuordnen sind. Die relativ

langwellige UV-Absorption ($\lambda_{\text{max}} = 252 \text{ nm}$, $\epsilon = 11\,200$) deutet auf ein konjugiertes chromophores System hin. Am chromophoren System ist zumindest eine Carbonyl-Gruppe beteiligt, da die Reaktion mit 2,4-Dinitrophenylhydrazin (Reagens auf Carbonyl-Gruppen) positiv ist. Im IR-Spektrum (Abbildung 9) fällt die Bande bei 1685 cm^{-1} für die CO-Valenzschwingung auf (Erwartungsbereich 1665 cm^{-1} bis 1685 cm^{-1} , L.J.BELLAMY, 1966).

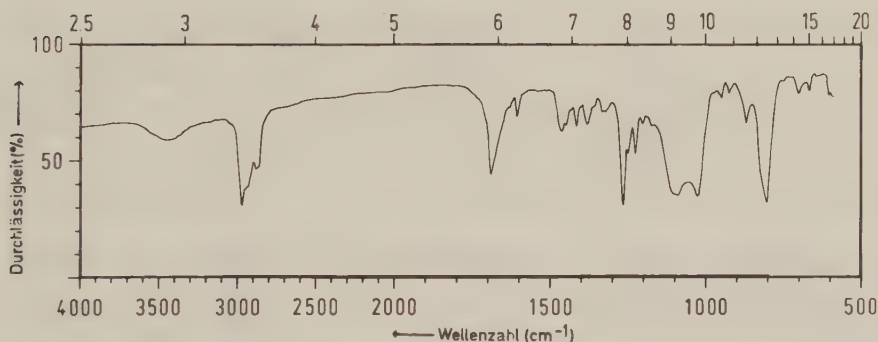


Abb. 9: IR-Spektrum des isolierten Steroids (Sl) in KBr

Auch nach dem UV-Spektrum könnte ein substituiertes s-trans-Enon-System vorliegen. (Erwartungsbereich $\lambda_{\text{max}} = 244 \text{ nm}$, A.I. SCOTT, 1964). Allerdings stimmen errechneter und beobachteter Wert nicht genau überein; vielmehr absorbiert das Kawa-steroid um 8 nm bathochrom verschoben. Dennoch ein Doppelbindungsäquivalent in der Formel unterzubringen ist, da ferner die Funktion eines Sauerstoffmoleküls noch nicht festliegt,

wurde versuchsweise angenommen, es könnte statt des Enon-Systems das chromophore Endion-System vorliegen. Aufgrund der Literatur (A.I.SCOTT, 1964) absorbieren Endione, je nach sterischer Anordnung und Konformation des Moleküls in dem breiten Intervall von $\lambda_{\max} = 224$ bis 275 nm. Der *Abbildung*¹⁰ läßt sich entnehmen, daß das Endion-System vom Typ 3 nach Lage der Absorptionsbanden mit dem chromophoren System des isolierten Steroids übereinstimmt.

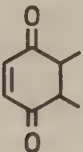
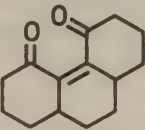
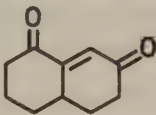
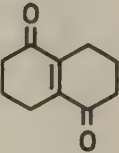
			
1	2	3	4
gef $\lambda_{\max}$ 224	255-263	252	275
ber $\lambda_{\max}$ 227	259	244	249

Abb. 10: UV-Maxima von Endion-Systemen in Steroiden und Triterpenen (A.I.SCOTT, 1964)

Nun weisen bekanntlich alle natürlichen Steroide aus biogenetischen Gründen am Kohlenstoff C-3 eine Sauerstofffunktion auf. Setzt man eine der beiden Carbonyl-Gruppen in Position C-3, dann bleibt eine einzige Möglichkeit, ein Endion-System des Typs 3 in den beiden Ringen A und B des Seitenskeletts unterzubringen.

Diese Überlegung führt zu folgender hypothetischer Formel:

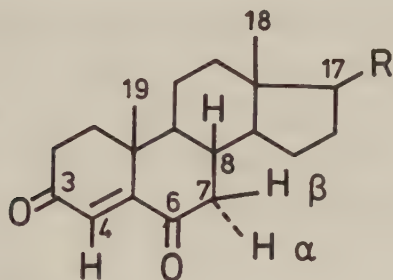


Abb. 11: hypothetische Strukturformel des Steroidgrundgerüsts

Die Annahme wird dadurch gefestigt, das im 400-MHz- ^1H -NMR-Spektrum (Abbildung 12) ein im olefinischen Bereich auftretendes Signal ($\delta = 6.18$ ppm) mit der Integration für ein Proton als Singulett erscheint und dem 4-H zugeordnet werden kann. Bei hohem Feld befinden sich die Signale für die angulären Methyl-Gruppen 18-Me ($\delta = 0.715$ ppm) und 19-Me ($\delta = 1.170$ ppm) als Singulett (J.RUBINSTEIN, 1976; L.J.MULHEIRN, 1973). Das 7 β -H ($\delta = 2.690$ ppm) spaltet auf zum Doppeldublett, und zwar durch die geminale Kopplung mit dem 7 α -H ($J_{7\alpha,\beta} = 15.5$ Hz) und die vicinale Kopplung mit dem 8-H ($J_{7\beta,8} = 4$ Hz). Eine weitere Bestätigung der Konstitution bringt das Massenspektrum (Abbildung 13) Δ^4 -3,6-Diketosteroide ergeben charakteristische Fragmente, und zwar m/z 136 und 137 (G.SPITELLER, 1966; R.H.SHAPIRO, J.M.WILSON und C.DJERASSI, 1963; C.DJERASSI, J.KALINER, R.T.ALPIN, 1965). Eben die Fragmente der genannten Massenzahlen wurden im Massenspektrum der isolierten Substanz

beobachtet. Die vom gesättigten Teil des Moleküls ausgehenden Fragmentierungen der Ringe C und D sowie die Fragmente der Seitenkette entsprechen dem bekannten Fragmentierungsschema des Cholesterins (m/z 243, 285 und 313) bzw. β -Sitosterins. Unter anderem ergibt sich, das am C-17 eine $C_{10}H_{21}$ -Seitenkette substituiert ist. (G.SPITELLER, 1966; G. von UNRUH, M.SPITELLER-FRIEDEMANN und G.SPITELLER, 1970).

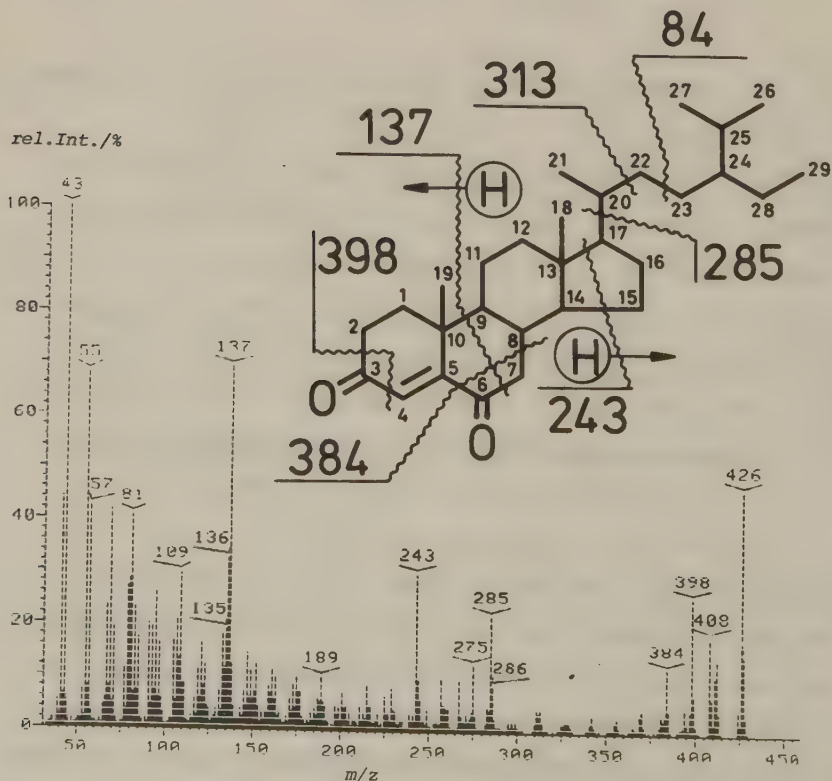


Abb. 13: Massenspektrum des isolierten Steroids (S1)

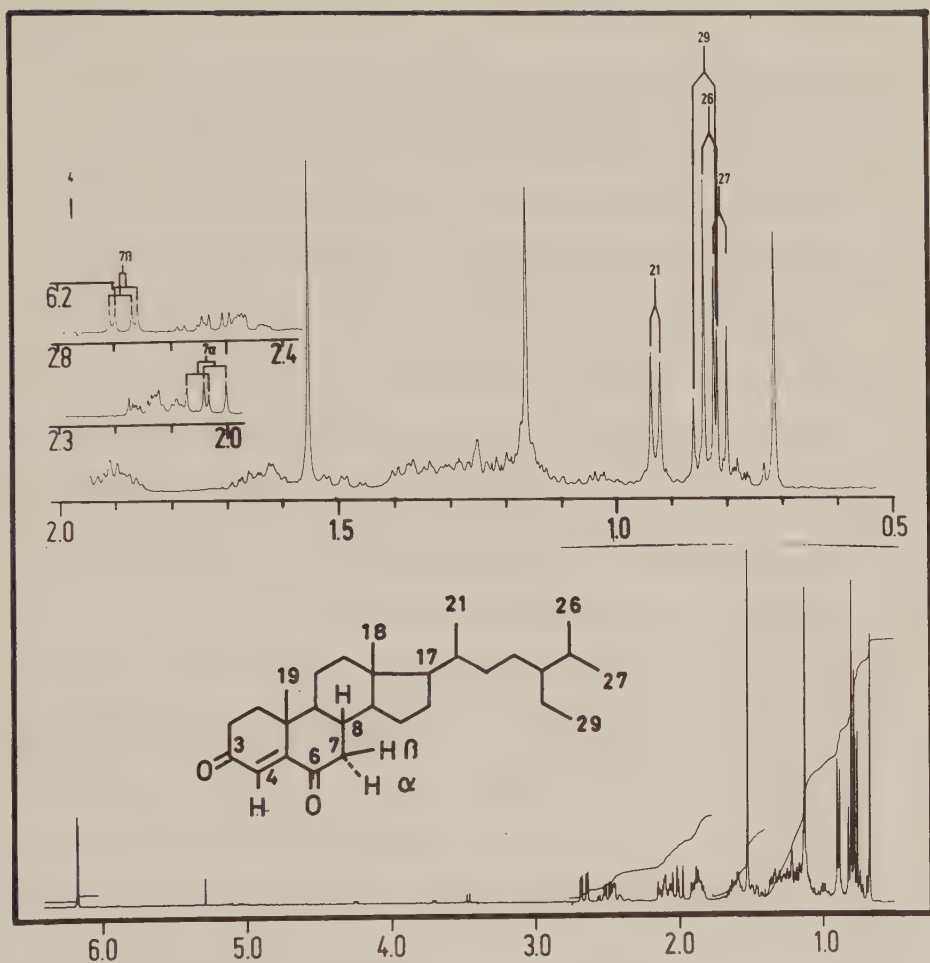


Abb. 12: $400\text{-MHz } ^1\text{H-NMR}$ -Spektrum des isolierten Steroids (S1) in CDCl_3

Herrn Dr. Rosenberg, Firma Schering AG Berlin, danke ich für die Aufnahme und Diskussion des $400\text{-MHz } ^1\text{H-NMR}$ -Spektrums.

Alle spektralen Daten sprechen somit dafür, daß es sich bei dem isolierten Steroid um Stigmast-4-en-3,6-dion handelt. Ein Naturstoff der angegebenen Struktur ist bereits in der Literatur beschrieben. Die Substanz wurde bereits aus *Sambucus ebulus* (P.TUNMANN, H.J.GRIMM, 1974), *Hamelia patens* und *Clitoria ternatea* (H.RIPPBERGER, 1978), sowie aus Pinusarten (J.W.ROWE, 1965) isoliert. Wie *Abbildung 14* zeigt, stimmen die relevanten Stoffkonstanten des aus *Piper methysticum* isolierten Steroids mit den Daten der Literatur gut überein.

Zusammenfassend: In einer Ausbeute von 50 mg aus 6 kg Droge wurde aus *Piper methysticum* ein Steroid isoliert und die Konstitution ermittelt. Es handelt sich um einen Naturstoff, der bisher nur selten aufgefunden wurde.

S t i g m a s t - 4 - e n - 3 , 6 - d i o n

gef.	J.W.ROWE, 1965	P.TUNMANN und H.J.GRIMM, 1974	H.RIPPBERGER, 1978
<u>Schmelzpunkt</u>			
166 - 168 °C	170 - 172 °C	170 - 172 °C	166 - 168.5 °C
MeOH/Ether		Petrolether/ Ether	EtOH
<u>UV</u>			
252 nm ($\epsilon = 11200$)	252 nm ($\epsilon = 12600$)	252 nm ($\epsilon = 11363$)	253 nm ($\epsilon = 9333$)
<u>MS</u>			
426, 411, 285, 275, 243, 137		426, 411, 285, 243, 137	426, 408, 398, 285, 243, 137
<u>400-MHz-¹H-NMR (CDCl₃)</u>		<u>60-MHz- (CDCl₃)</u>	<u>100-MHz- (CDCl₃)</u>
18-H 0.715 (s)		0.69	0.73
26-H 0.830 (d)			0.82
27-H 0.815 (d)			0.84
21-H 0.935 (d)			0.94
19-H 1.170 (s)			1.17
4-H 6.180 (s)		5.85	6.18

Abb. 14: Vergleich von Stoffkonstanten des isolierten Steroids mit Literaturangaben von Stigmast-4-en-3,6-dion

2.2.1.2.2 Isolierung eines Flavanons und Identifizierung als 5-Hydroxy-4',7-Dimethoxyflavanon

Aus Cyclohexan/Ethylacetat kristallisierten farblose Nadeln mit einem Schmelzpunkt von 117 - 117.5 °C. Durch Aufnahme eines hochaufgelösten Massenspektrums konnte aus dem Molpeak ($M^+ = 300.0996$) die Summenformel $^{12}C_{17}H_{16}O_5$ entnommen werden. Von den sechzehn Wasserstoffatomen der Bruttoformel liegen gemäß 250-MHz- 1H -NMR-Spektrum (Abbildung 15) sechs im Aromatenbereich, die sich folgendermaßen verteilen: in Multiplett mit vier Protonen bei $\delta = 7.41$ ppm und 6.96 ppm, das Dublett bei $\delta = 6.5$ und 6.09 ppm (2.2 Hz) ist zwei metakoppelnden aromatischen Protonen zuzuordnen; je ein Singulett für drei Protonen $\delta = 3.82$ und 3.84 ppm entspricht zwei OMe. Die restlichen drei Protonen im aliphatischen Bereich zeigen das Aufspaltungsmuster eines ABX-Systems. Die gemessenen Kopplungskonstanten stimmen mit denen von J.MASSICOT und J.P.MARTHE (1962) angegebenen Werten für die drei Protonen im heterocyclischen Ringteil eines Flavanons überein (s. Abbildung 16).

Substanz	J_{AB} (Hz)	J_{AX} (Hz)	J_{BX} (Hz)
Flavanon	17.1	13.5	13.2
isoliertes Flavanon	17.1	13.0	3.1

Abb. 16: Vergleich der Kopplungskonstanten des aus der Kawa-droge isolierten Flavanons mit Angaben der Literatur (J.MASSICOT und J.P.MARTHE, 1962)

Das Singulett bei $\delta = 12.06$ ppm ist mit D_2O austauschbar und entspricht einer phenolischen OH-Gruppe. Die Lage des Signals bei vergleichsweise tieferem Feld spricht für das Vorliegen eines Chelates, somit für die Position am C-5 (J.B.HARBORNE, J.MARBRY und H.MARBRY, 1975).

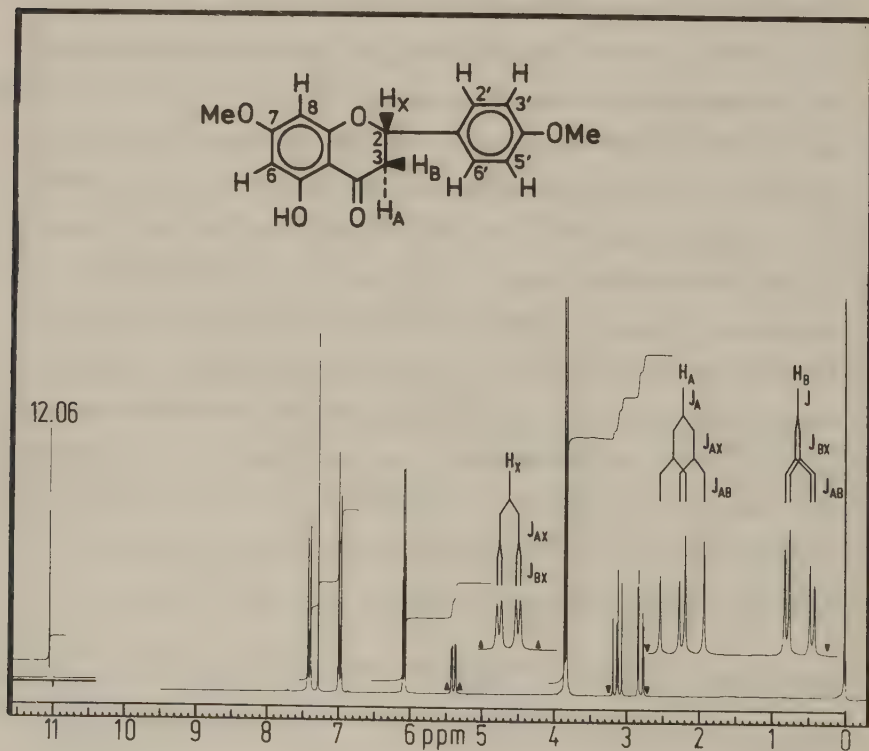


Abb. 15: 250-MHz- 1H -NMR-Spektrum des isolierten Flavanons in $CDCl_3$

Das UV-Spektrum bestätigt diese Aussage; Flavanone zeigen ein spektrales Verhalten vergleichbar mit den Acetophenonen. o-Hydroxyacetophenone, dementsprechend 5-Hydroxyflavanone, haben bei $\lambda_{\text{max}} = 330 \text{ nm}$ eine zusätzliche $n \rightarrow \pi^*$ -Bande (A.I.SCOTT, 1964). Das IR-Spektrum (Abbildung 17) zeigt eine für Flavanone typische Carbonyl-Valenzschwingung bei 1635 cm^{-1} . Bei einem im A-Ring unsubstituiertem Flavanon liegt die Frequenz für eine Carbonyl-Schwingung bei 1680 cm^{-1} (H.WAGNER, 1964). Die beobachtete Verringerung der Frequenz ist ein Beweis, daß die CO-Gruppe mit der OH-Funktion in Position 5 einen sechsgliedrigen Chelat-Ring bildet.

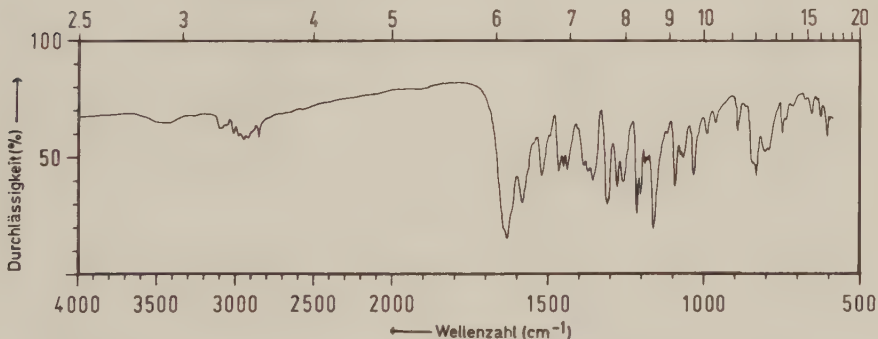


Abb. 17: IR-Spektrum des isolierten Flavanons in KBr (S2)

Das Fragmentierungsmuster des Massenspektrums (Abbildung 18) liefert eine weitere Ergänzung der bisherigen Ergebnisse. Es zeigt den für Flavanone typischen Retro-Diels-Alder-Zerfall (T.RADFORD, J.G.SWEENEY et al., 1979; C.van de SANDE, 1972).

Aus der Bruchstückbildung m/z 166 und 134 ergibt sich die Information über die Verteilung der zwei Methoxy-Gruppen auf die beiden Ringe A und B des Flavanonmoleküls : Jeder der beiden aromatischen Ringe ist Methoxyl-substituiert. Daß der Seitenphenylring O-substituiert ist, ergibt sich im übrigen aus dem positiven SHINODA-Test (H.SAUER, 1967). Die OMe-Gruppe steht p-ständig zur Anheftungsstelle des Ringes C, da das 250-MHz- ^1H -NMR-Spektrum ein symmetrisches AA'BB'-System für die vier Protonen des Seitenphenyls zeigt. Das Fragment m/z 121 stellt die Abspaltung eines Methoxybenzyl-Ions dar.

rel.Int./%

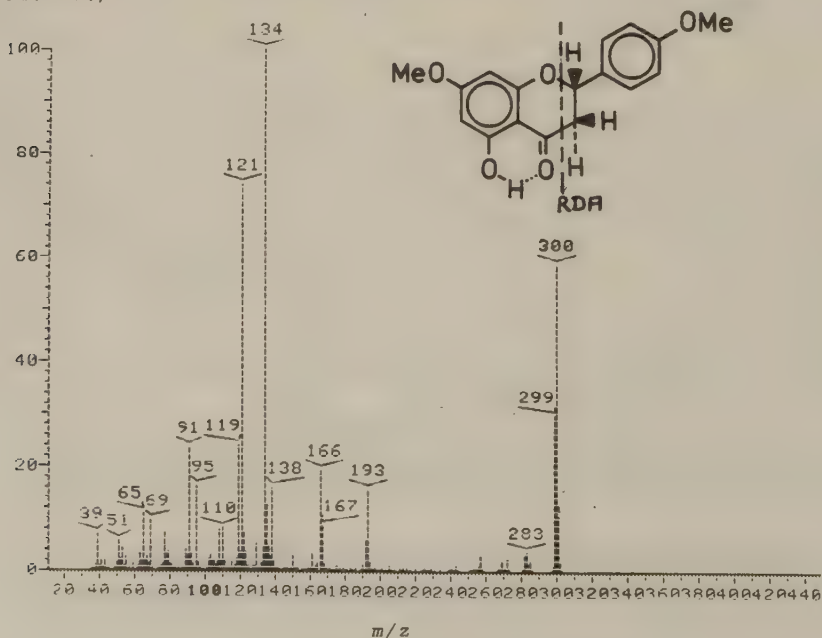


Abb. 18: Massenspektrum des isolierten Flavanons

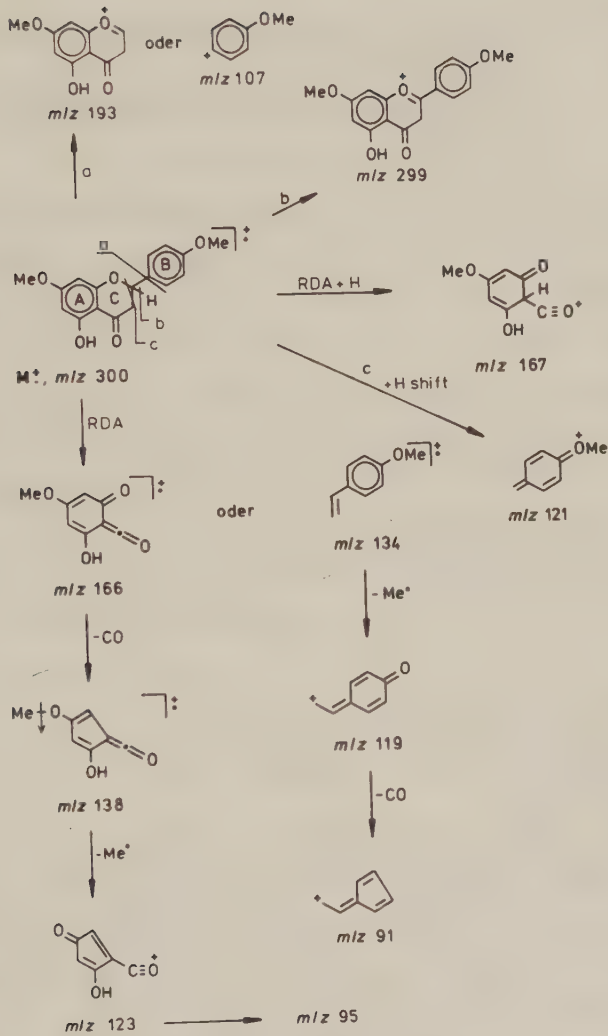


Abb. 19: Fragmentierung von 5-Hydroxy-4',7-dimethoxyflavanon

2.2.1.2.3 Anhang: Bestätigung des Vorkommens von racemischen Pinostrobin

Diskussion über das Fehlen einer Chalkon-Flavanon-Isomerase

Im Zuge der unter 2.2.1.1. beschriebenen Aufarbeitung fiel eine Substanz an, die sich als identisch mit einer Substanz erwies, die bereits früher von C.CHUANG (1979) aus der gleichen Droge isoliert worden war: Aus Methanol kristallisieren farblose Plättchen, die bei 100 - 101 °C schmelzen. Die Substanz zeigt im DC die gleichen Eigenschaften wie authentisches Pinostrobin, und zwar bezüglich R_f -Wert und Reaktionen mit den Sprühreagentien Vanillin/Schwefelsäure und Naturstoffreagens. Zum Unterschied von authentischen Pinostrobin, das optisch aktiv ist, weist das aus der Kawadroge isolierte Pinostrobin keine Drehung auf, was die Vermutung nahe legt, es könne sich um ein Flavanon handeln, das durch spontane Cyclisierung entstanden ist, daß m.a.W. der Pflanze *Piper methysticum* die Chalkon-Flavanon-Isomerase fehlt.

Flavanone gehören zu den chiralen Pflanzeninhaltsstoffen (J.W. CLARK-LEWIS, 1962), die üblicherweise durch Cyclisierung aus den achiralen Chalkonen unter dem Einfluß der Chalkon-Flavanon-Isomerase sich bilden. (K.HAHLBROCK, 1971). Überraschenderweise sind sämtliche bisher aus *Piper*-Arten isolierten Flavanone als Racemate isoliert worden. Diese Beobachtung läßt sich am ehesten mit der Annahme erklären, daß, wie oben erwähnt, die Art *Piper methysticum* sich von vielen anderen Pflanzenarten durch das

Fehlen einer Chalkon-Flavanon-Isomerase unterscheidet. Diese Vermutung wird durch die weitere Beobachtung erhärtet, daß, abhängig von der Konstitution, die jeweiligen Isomerenpaare (Chalkon-Flavanon) in variierenden Mengenverhältnissen vorkommen und zwar in Relation, die ungefähr ihrer Gleichgewichtskonzentration bei physiologischen pH-Werten entspricht. Die in *Piper methysticum* vorkommenden Chalkon-Flavanon-Paare (Abbildung 20) lassen sich grob in zwei Gruppen unterteilen:

- In eine Gruppe mit zwei o-ständigen freien phenolischen Gruppen, o-ständig bezüglich des Carbonyl-Substituenten = 2',6'-Dihydrochalkon-Typ I, und
- in eine Gruppe mit einer freien phenolischen Gruppe benachbart zum Carbonyl-Substituenten = 2'-Hydroxy-6'-methoxychalkon-Typ II.

Nach in-vitro-Studien cyclisieren Chalkone des ersten Typus leicht (s. dazu R.HÄNSEL, H.RIMPLER, 1968); das Gleichgewicht liegt weitgehend auf der Seite der Flavanone. Fehlt eine der beiden phenolischen Gruppen - die Verschließung einer phenolischen Gruppe durch Methylierung ist analog zu sehen - dann liegt das Gleichgewicht verschoben zugunsten der Chalkone vor. Für die Lage des Gleichgewichts dürfte die tiefere Ursache in der Ausbildung einer Wasserstoff-Brücke zwischen der 5-Position (Flavanon-Form) bzw. bei der 6'-Position (Chalkon-Form) zu suchen sein. (Abbildung 20).

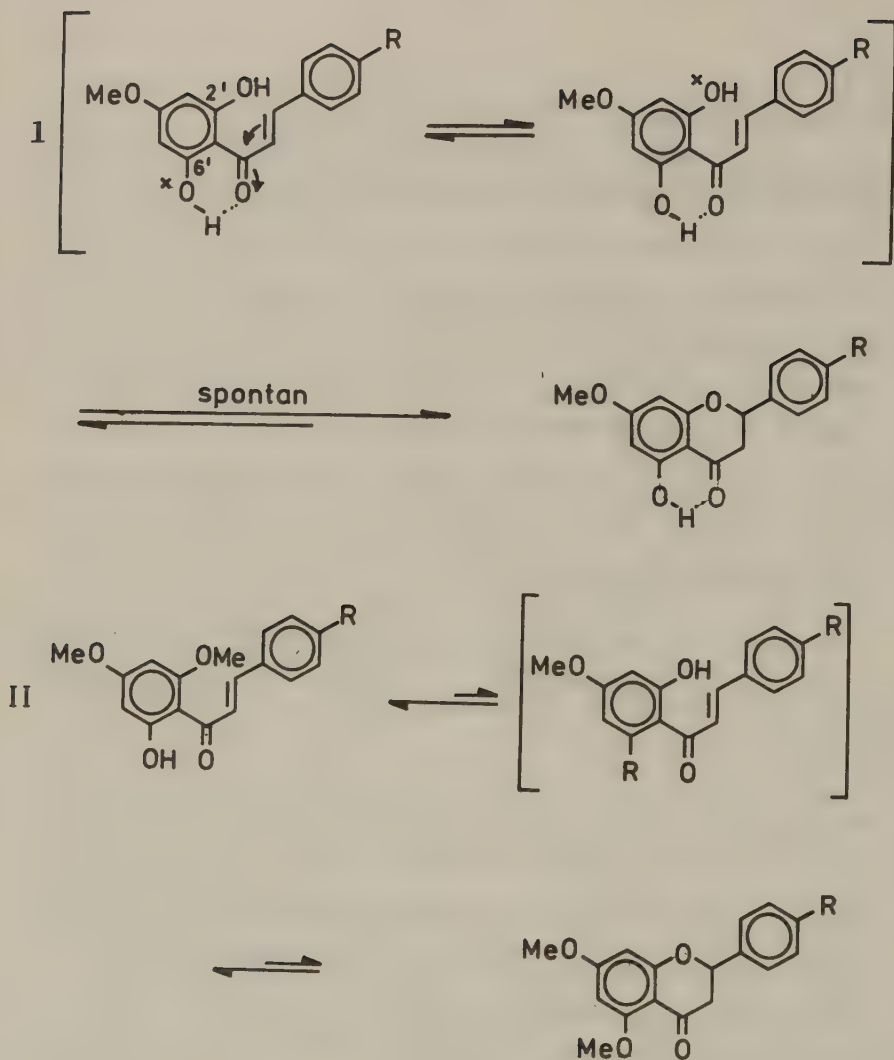


Abb. 20 : Lage des Gleichgewichtes (schematisch) unter physiologischem pH-Wert: im Falle der 2',6'-Dihydroxychalkone liegt das Gleichgewicht weitgehend auf der Seite der Flavanon-Form; im Fall der 6'-Monohydroxychalkone, die durch Chelat-Bildung stabilisiert sind, auf der Seite der Chalkon-Form

Es überrascht daher nicht, daß von diesem 2',6'-Dihydroxy-Typus aus der Droge nur die Flavanone isoliert worden sind, nicht hingegen die Chalkon-Formen (Abbildung 21). Die chemischen in-vitro-Eigenschaften der Isomerenpaare Chalkon und Flavanon erklären somit zwanglos das Verteilungsmuster der Flavanone im Ring A.

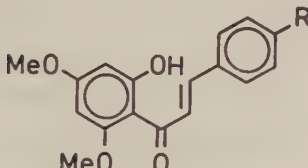
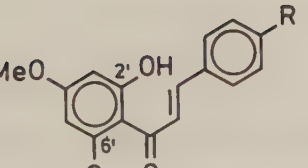
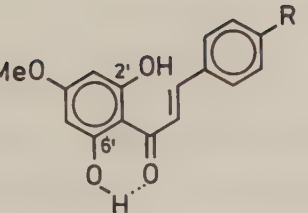
	Chalkon-Form	Flavanon-Form
	(% isol.)	(% isol.)
	R = OMe	
	Flavokawin A	Trimethoxyflavanon
	0.06 %	0.001 %
	R = H	
	Flavokawin B	nicht nachweisbar
	0.02 %	
	R = H	Pinostrobin rac.
	nicht nachweisbar	0.003 %
	R = OMe	
	nicht nachweisbar	5-OH-4',7-dimethoxyflavanon rac.
		0.001 %

Abb. 21: aus *Piper methysticum* isolierte Chalkone und Flavanone

Zusammenfassend: Das Verteilungsmuster der Chalkone und Flavone spricht dafür, daß die Flavanon - Biosynthese in *Piper methysticum* enzymatisch gelenkt nur bis zur Chalkon-Stufe erfolgt. Die Flavanon-Racemate entstehen durch spontane Cyclisierung in Fällen, in denen die strukturelle Voraussetzung (2',6'-Dihydroxychalkon) gegeben ist.

2.2.2 Chemische Zusammensetzung des Wassermazerates aus Rhizoma Kawa-Kawa

Wie im Abschnitt 1.1 beschrieben, wurde der Kawatrank in Polynesien auf eine eigenartige Weise hergestellt. Die zerkleinerte Droge wurde mit kaltem Wasser verrührt und das ganze mit den Händen verknetet und nach etwa 10 min grobe Drogenpartikel mit einem Hibiscusfaserbündel entfernt. In pharmazeutischer Sicht ist der Kawatrank ein Wassermazerat. Bei den Mazerationsverfahren unterscheidet man neuerdings zwischen den ruhenden und bewegten Mazerationsverfahren (H.SUCKER, P.FUCHS und P.SPEISER, 1978). Bewegung erzielt man durch Rühren, Schütteln oder Wirbeln. Wenn man das Durchkneten und Verrühren des Ansatzes als Bewegung ansieht, dann könnte man die Zubereitung des Kawatrankes mit einer gewissen Berechtigung als Bewegungsmazeration bezeichnen. Eine Wassermazeration wird pharmazeutisch sinnvoll nur dann angewendet, wenn polare, wasserlösliche Stoffe extrahiert werden sollen. Das Eigenartige an der Herstellung des Kawatrankes liegt nicht zuletzt darin, daß es

bei der Herstellung des Kawatrankes aber darauf ankommt, Wirkstoffe mit lipophilem Charakter und damit sehr geringer Löslichkeit in Wasser, zu extrahieren. Es ist daher vordringlich, einmal zu prüfen, in welchen Konzentrationen lipophile Drogeninhaltsstoffe in einen solchen Kawatrank gelangen: Wie effektiv gleichsam das Extraktionsverfahren ist.

2.2.2.1 Quantitative HPLC-Bestimmung der Kawapyrone

Die Herstellung des Getränkes wurde simuliert, indem 10 g Drogenpulver mit 100 ml Wasser bei Raumtemperatur 10 Minuten lang einer Kaltwasser-Wirbelextraktion unterzogen wurde (Waring blender). Nach Filtration ist das Mazerat durch kolloidal gelöste Stoffe opaleszierend. Nach etwa 20 Stunden setzt sich ein Bodensatz ab.

Zur quantitativen Bestimmung wurden die Mazerate unmittelbar nach ihrer Herstellung weiterverarbeitet. Die lipophilen Stoffe wurden mit Dichlormethan erschöpfend extrahiert. Bekannte Mengen des Dichlormethanauszuges wurden nach der im Abschnitt 2.2.1.1 beschriebene Methode auf ihren Gehalt an Kawapyronen geprüft. In *Abbildung 22 und 23* sind die Ergebnisse zusammengefaßt. Danach gelangen überraschend hohe Konzentrationen an wasserunlöslichen Kawapyronen in einen Kaltwasserauszug. Mengemäßig vorherrschend sind Dihydrokawain und Kawain. Nimmt man an, daß eine Schale des Kawatrankes etwa 30 g Droge entspricht, so würde pro Person eine Konzentration von ungefähr 210 mg Ka-

wapyronen zugeführt. (P. STAFFORD, 1980). Dies ist eine Dosis, die tranquillisierende Wirkung erwarten läßt. Zum Vergleich: Die aufgrund klinischer Untersuchungen festgelegte Einzeldosis in dem Präparat Neuronika beträgt 200 mg Kawain.

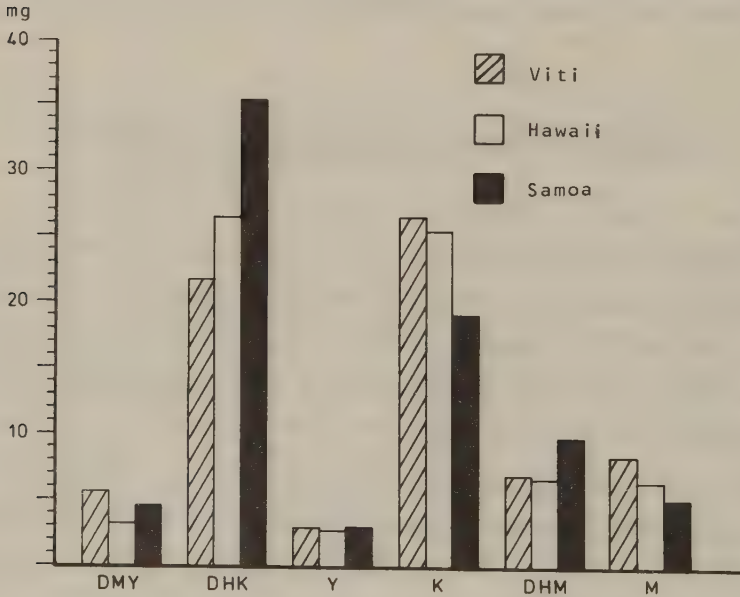


Abb. 22: Gehalt an Kawapyronen unterschiedlicher Provenienz im Wassermazerat (mg / 100 ml Mazerat)

Droge Provenienz	mg Substanz in 100 ml Mazerat						gesamt
	DMY	DHK	Y	K	DHM	M	
Viti	5.70 ±1.75 %	21.73 ±4.42 %	2.83 ±4.95 %	26.30 ±0.87 %	6.83 ±6.30 %	8.29 ±4.22 %	71.47 ±1.99 %
Hawaii	3.20 ±10.6 %	26.36 ±6.61 %	2.73 ±5.86 %	25.33 ±0.71 %	6.65 ±5.71 %	6.25 ±8.96 %	70.51 ±1.29 %
Samoa	4.52 ±2.88 %	35.17 ±2.08 %	2.90 ±7.59 %	18.92 ±2.10 %	9.65 ±5.60 %	5.07 ±7.30 %	76.26 ±3.04 %

Abb. 23 : Gehalt an Kawapyronen von Drogen unterschiedlicher Provenienz in 100 ml Wasser-
mazerat (mg Substanz / 100 ml Mazerat aus 10 g Droge).
Mittelwerte aus fünf Proben und rel. Standardabweichung in %

Droge	Substanz (g / 100g)					
Provenienz	DMY	DHK	Y	K	DHM	M
Viti	7.98 ± 0.75	30.40 ± 2.53	3.96 ± 4.80	36.80 ± 2.17	9.54 ± 4.67	11.60 ± 5.00
Hawaii	4.56 ± 11.18	37.20 ± 5.81	3.87 ± 7.05	35.89 ± 1.11	9.43 ± 4.88	8.87 ± 9.36
Samoa	5.93 ± 2.19	46.20 ± 2.88	3.78 ± 9.84	24.85 ± 1.49	12.91 ± 3.25	6.64 ± 10.40

Abb. 24: Prozentuale Verteilung der Kawapyrone im Wassermazerat (Summe = 100 Prozent) arithmetisches Mittel aus fünf Proben und relative Standardabweichung in Prozent

R.KRETZSCHMAR et al. haben den Gehalt von Kaltwasserauszügen der Kawadrobe mit biologischen Methoden gemessen (Methode: Isoliertes Meerschweinchenileum [Magnus]). Die Autoren kommen auf einen Höchstgehalt von 0.18 Prozent an spasmolytisch wirkenden Pyronen (R.KRETZSCHMAR, H.J.MEYER, H.J.TESCHENDORF und B. ZÖLLNER, 1969). Ganz offensichtlich ist der mit chemisch-analytischen Methoden ermittelte Gehalt kaum vergleichbar: Die biologisch ermittelten Höchstgehalte betragen nur etwa 25 Prozent der wahren mit HPLC-Technik ermittelten Gehalte.

2.2.2.2 Gehaltsbestimmung nicht lactonischer lipophiler Inhaltsstoffe

In der Droge kommen Flavokawin A und B in einer Konzentration von etwa 0.1 Prozent vor; sowie β -Sitosterin mit einem Gehalt von rund 0.01Prozent. Es stellt sich nun die Frage ob diese Substanzen, die in geringer Menge in der Droge enthalten sind und zudem stärker lipophil sind als die Kawapyrone, auch im Wassermazerat nachweisbar sind.

Die Herstellung des Kawatrankes, zugleich der zu prüfenden Extrakte, erfolgte in der gleichen Weise wie im vorhergehenden Abschnitt 2.2.2.1. Die Anreicherung erfolgte ebenfalls durch Extraktion mit Dichlormethan. Die Flavokawine wurden mittels halbquantitativer DC bestimmt (Bedingungen s. Abschnitt 2.2.1.1.2). Der Gehalt in β -Sitosterin wurde gaschromatographisch ermittelt (Bedingungen s. Abschnitt 2.2.1.1.3).

Die Ergebnisse der Gehaltsbestimmungen sind in *Abbildung 25* zusammengefaßt.

Droge	mg Substanz in 100 ml Wassermazerat		
	Flavokavin A	Flavokavin B	β -Sitosterin
Viti	0.5	0.1	0.3
Hawaii	0.5	0.1	0.2
Samoa	0.6	0.2	0.2

Abb. 25: Gehalt an Flavokawin A und B, sowie β -Sitosterin aus Drogen unterschiedlicher Provenienz in 100 ml Wassermazerat (mg / 100 ml aus 10 g Droge)

Aus der Droge werden durch Mazeration mit Wasser etwa 0.7 mg Flavokawine und 0.2 mg β -Sitosterin extrahiert. Diese Substanzen können aufgrund ihrer geringen Konzentrationen bei der Diskussion der Wirkstofffrage außer acht gelassen werden.

2.2.3 Wasser und Dichlormethan als Extraktionsmenstruum Diskussion der unter 2.2.1 und 2.2.2 erhaltenen Ergebnisse

Vergleicht man die Zusammensetzung eines Wassermazerates mit der Zusammensetzung eines Dichlormethanextraktes - dies entspricht zugleich der Zusammensetzung der Ausgangsdroge - so stellt man zunächst einmal fest, daß mit Wasser nur ein Bruchteil an Pyronen, etwa 1/10, extrahierbar ist. (Gesamtpyron-

gehalt: Dichlormethanextrakt = 6.8 Prozent im Mittel, im Wassermazerat = 0.73 Prozent im Mittel). Dies bedeutet jedoch keineswegs, daß jedes individuelle Pyron mittels Wasser nur zu 10 Prozent extrahierbar wäre. Die *Abbildung 26a und b* zeigt, daß jeweils ein variierender Bruchteil extrahiert wird: Vom Dihydrokawain gelangen rund 1/3 aus der Droge in das Mazerat, von Yangonin hingegen nur rund 3 Prozent.

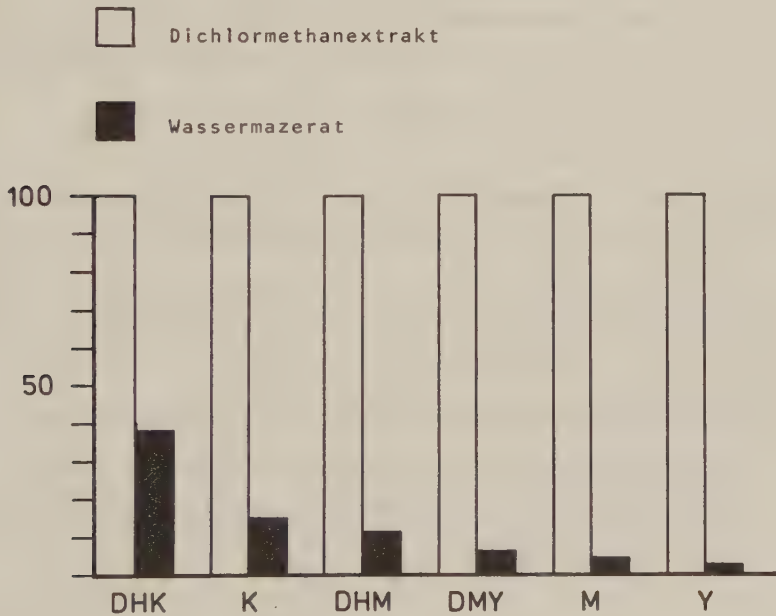


Abb. 26a: Prozentualer Anteil der Kawapyrone, die aus der Droge in ein Wassermazerat übergehen (Gesamtgehalt jeweils = 100 Prozent), arithmetisches Mittel aus drei Drogen unterschiedlicher Provenienz (s.a. *Abbildung 26b*)

Droge	Prozentualer Anteil der Kawapyrone						
	DMY	DHK	Y	K	DHM	M	gesamt
Viti	5.84	38.92	2.71	14.67	13.56	4.92	10.86
Hawaii	4.14	41.47	2.78	21.45	9.20	4.22	12.82
Samoa	7.91	33.76	1.66	8.86	11.64	2.55	9.18
$\bar{x}$	5.84	38.05	2.38	14.99	11.47	3.90	10.95

Abb. 26b: Prozentualer Anteil der Kawapyrone, die aus der Droge in ein Wassermazerat übergehen (Gesamtgehalt = 100 % bezogen auf den Dichlormethanextrakt), $\bar{x}$ gleich arithmetisches Mittel aus drei Drogen unterschiedlicher Provenienz

Man muß sich nun fragen, womit diese unterschiedliche Extrahierbarkeit zusammenhängt. Es liegt nahe, die Ursache in der unterschiedlichen Löslichkeit in Wasser zu suchen. Aus diesem Grund wurden die maximalen Löslichkeiten in Wasser bestimmt. Die Ergebnisse sind in *Abbildung 27* zusammengefaßt.

Danach erweist sich Dihydrokawain als die in Wasser am besten lösliche Substanz, gefolgt in weitem Abstand von den übrigen Pyronen, wobei Yangonin am Ende der Löslichkeitsreihe steht.

Substanz	maximale Löslichkeit in Wasser	
	mg/100 ml	Literaturwerte*
DHK	8.1	-
K	2.2	2.4
DHM	1.5	-
M	1.2	0.9
DMY	0.5	-
Y	0.3	0.2

Abb. 27: maximale Löslichkeit der Kawapyrone in Wasser bei 21 °C und spektralphotometrische Messung der Konzentrationen in 100 ml Wasser

* Ermittelt wurde nicht die Löslichkeit der individuellen Einzelpyrone, sondern ein Gemisch als sog. "künstlicher Extrakt"
- nicht gemessen (L.CSUPOR, 1970).

Geht man mit diesen Kenntnissen erneut an die Interpretation (Abbildung 26), so sieht man das beinahe triviale Ergebnis ad oculus demonstriert, daß die Extrahierbarkeit von der Löslichkeit der Stoffe abhängt. Die Ausgangskonzentrationen in der Droge an Pyronen ist demgegenüber wenig entscheidend: Offenbar liegt der Gehalt in der Droge weit über der Sättigungskonzentration. Aus der Abbildung 27 kann man sich errechnen, wie hoch der Gehalt an Kawapyronen in einem "künstlichen Kawatrunk" sein würde. Man errechnet einen Gesamtpyrongehalt von 13.8 mg/100 ml Wasser. Vergleicht man nun diese Zusammensetzung eines "künstlichen Mazerates" mit dem Mazerat, das aus der

Kawadrogen gewonnen wurde (s. dazu *Abbildung 28*), so zeigt sich, daß aus dem Drogenverband der Kawadrogen rund das Fünffache extrahiert wird.

		Gehalt mg/100 ml Wasser		
Reinsubstanz		Mazerat (Drogen Provenienz)		
DHK		Viti	Hawaii	Samoa
DHK	8.10	21.73	26.36	35.17
K	2.20	26.30	25.30	18.92
DHM	1.50	6.82	6.65	9.65
M	1.20	8.29	6.25	5.07
DMY	0.50	5.70	3.20	4.52
Y	0.25	2.83	2.73	2.90

Abb. 28: Gehalt von Kawapyronen in 100 ml Wasser (aus 10 g Droge unterschiedlicher Provenienz) im Vergleich mit den Löslichkeiten der jeweiligen Reinstoffe

Dieses Ergebnis kann als experimenteller Beleg für die häufig geäußerte Ansicht dienen, daß die galenischen Zubereitungen aus der Gesamtdroge (Gesamtdrogenauszug) stärker wirksam sind, als ein einzelner, definierter Wirkstoff.

Dieses Ergebnis, daß die Kawapyrone im Gemisch eine größere Löslichkeit aufweisen, als jedem Einzelpyron jeweils entspricht, kann man nicht ohne weiteres erklären: Für Gemische nahe verwandter Substanzen trifft in der Regel das Gegenteil zu, daß die Löslichkeiten der Einzelstoffe herabgesetzt sind.

Möglicherweise spielen in der Droge vorhandene Lösungsvermittler eine Rolle. In erster Linie wird man hierbei an Saponine denken. Die Kawadroge wurde folglich auf das Vorkommen von Saponinen geprüft, allerdings mit negativem Ergebnis, so daß Saponine als Lösungsvermittler im vorliegenden Fall zur Klärung des Phänomens ausscheiden. Daß andere Lösungsvermittler möglicherweise eine Rolle spielen, dafür sprechen die Meßergebnisse der Oberflächenspannung: Wassermazerate aus der Kawadroge zeigen Meßwerte (45 dyn/cm), die eine Erniedrigung der Oberflächenspannung anzeigen; dies entspricht etwa einer 0.04 prozentigen wäßrigen Dodecylnatriumsulfat-Lösung. (G.SCHWEN, 1966).

3 VERSUCHSTEIL

3.1 ALLGEMEINE ANGABEN

3.1.1 Chromatographie

3.1.1.1 Dünnschichtchromatographie (DC)

Zur Dünnschichtchromatographie wurden DC-Alu-Folien Kieselgel 60 F₂₅₄ Merck der Größe 20 x 20 cm verwendet. Die entwickelten Chromatogramme wurden mit Hilfe einer UV-Lampe, Typ Tl 900 der Firma Camag, ausgewertet, Emissionsmaxima wahlweise bei 254 und 366 nm. Die Konzentrationsangaben bei Fließmitteln beziehen sich auf Volumina (v/v). Alle Rf-Werte werden aus Gründen der besseren Übersichtlichkeit mit dem Faktor 100 multipliziert und als hRf-Werte angegeben.

3.1.1.2 Säulenchromatographie (SC)

Zur präparativen Säulenchromatographie wurde Kieselgel einer Korngröße 0.063 bis 0.2 mm (Merck) und Celite 545 (Johns Manville) verwendet. Die Konzentrationsangaben der Fließmittel beziehen sich auf Volumina (v/v).

3.1.1.3 Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC)

Zur HPLC-Trennung wurde ein Gerät der Firma Knauer verwendet. Als Trennsäule diente eine Kieselgelsäule 250 mm Länge, SI 100, 7 µm. Die Detektion erfolgte mit einem UV-Gerät (Firma Knauer)

der Empfindlichkeit 0.64 E. Dem HPLC-Gerät angeschlossen war ein Rechner (Chromatopac CRIA der Firma Shimadzu) zur Integration der Peakflächen.

3.1.1.4 Gaschromatographie (GC)

Die gaschromatographischen Untersuchungen wurden mit einem Gerät der Firma Perkin-Elmer F-22 durchgeführt. Dem Gaschromatographen angeschlossen war ein Schreiber (Firma Perkin-Elmer) Recorder 561 1 mV).

3.1.1.5 Detektion

Zur Detektion wurden folgende Sprühreagentien verwendet

- 1) Essigsäureanhydrid/Schwefelsäure (Liebermann-Burchard - Reagens) (nach E.STAHL, 1967, Nr. 101). Mischung aus 5 ml Essigsäureanhydrid, 5 ml konz. Schwefelsäure und 50 ml Ethanol. Eine optimale Farbausbildung wird nach 10 Minuten Erhitzen im Trockenschrank bei 110 °C erzielt und im langwelligen UV betrachtet.
- 2) Vanillin-Schwefelsäure-Reagens (nach E.STAHL, 1967, Nr. 247) Lösung von 1 g Vanillin in 100 ml konz. Schwefelsäure. Optimale Farbausbildung wird nach Erhitzen im Trockenschrank bei 120 °C erreicht.
- 3) Diphenylborsäure- β -aminoethylester (Naturstoffreagens nach NEU E.STAHL, 1967, Nr. 76) 1 prozentige Lösung in MeOH,

Die Fluoreszenzfarben wurden im langwelligen UV betrachtet.

4) 2,4-Dinitrophenylhydrazin-Reagens (nach E.STAHL, 1967, Nr. 76)

Lösung von 0.4 g 2,4-Dinitrophenylhydrazin in 100 g 2 N-HCl.

3.1.2 Spektroskopie

3.1.2.1 UV-Spektroskopie

Die Absorptionsspektren wurden mit einem Spektralphotometer (Firma Beckman DB-G) in CHCl_3 (Uvasol Merck) aufgenommen. Zur Aufnahme der Spektren wurden Quarzküvetten mit einer Schichtdicke von 1 cm verwendet.

3.1.2.2 IR-Spektroskopie

Die IR-Spektren wurden mit einem Perkin-Elmer-Spektralphotometer 297 aufgenommen. Zur Messung wurden KBr-Preßlinge hergestellt. Die Absorptionsbanden sind in cm^{-1} angegeben, und die Intensitäten mit s: stark, m: mittelstark, w: wenig, sh: Schulter, bezeichnet.

3.1.2.3 Massenspektroskopie

Die Massenspektren wurden mit einem Finnigan-MAT CH-7A bei 70 eV und angegebenen Verdampfungstemperaturen der Probe auf-

genommen. Die hochaufgelösten Massenspektren wurden mit dem Finnigan-MAT-Gerät 711 bei 80 eV und variablen Temperaturen vermessen.

3.1.2.4 ¹H-NMR-Spektroskopie

Die Kernresonanzspektren wurden mit einem WH-270- (270 MHz) und WH-400-Gerät (400 MHz) der Firma Brucker in CDCl₃ mit TMS als inneren Standard aufgenommen. Alle Angaben der chemischen Verschiebung erfolgen nach der δ_{TMS} -Skala in ppm. Die Multiplizität wird wie folgt angegeben: s = Singulett, d = Dublett, dd = Doppeldublett, t = Triplett, m = Multiplett.

3.1.3 Optische Drehung

Die optische Drehung wurde mit einem Perkin-Elmer-Polarimeter 141 gemessen.

3.1.4 Schmelzpunktbestimmung

Der Schmelzpunkt wurde mit einem Kofler-Heiztischmikroskop bestimmt (Firma Reichert).

Für die Aufnahme der hochaufgelösten Massenspektren danke ich Frau U.Ostwald, Organisch-Chemisches-Institut der Freien Universität Berlin. Für die Aufnahme und Hilfe bei der Auswertung der Massenspektren danke ich Herrn J. Lindemann am Pharmazeutischen Institut Berlin.

3.2 SPEZIELLE ANGABEN

3.2.1 Herkunft der Drogen

Untersucht wurden Drogen aus Viti*, Samoa*, sowie eine aus dem Drogenhandel bezogene Ware, vermutlich hawaiianischer Herkunft (Big Hawaii).

3.2.2 Quantitative Trennung der Kawapyrone mittels HPLC

3.2.2.1 HPLC-Trennung eines Modellgemisches

Apparatives

Gerät: Firma Knauer

Säule: Kieselgel (Si 100, 7 μ m, Länge: 250 mm)

Elution: Dioxan/Hexan (18 + 82)

Flußrate: 2 ml/min (130 bar)

Einspritzung: 20- μ l-Schleife

Detektion: 250 nm (Knauer-UV-Detektor)

Empfindlichkeit: 0.64 E

Papierschreibergeschwindigkeit: 0.5 cm/min

An das Gerät angeschlossen war ein Rechner zur Integration der Peakflächen (Firma Shimadzu)

* Herrn Dr. G. Koch danke ich für die Überlassung der Drogen. Viti (Fidschi-Inseln)

Modellgemisch

Yangonin (11.23 mg), Desmethoxyyangonin (9.57 mg), Kawain (20.57 mg), Dihydrokawain (19.70 mg), Methysticin (20.55 mg), Dihydromethysticin (19.53 mg) in 10 ml Dioxan gelöst. Einspritzmenge 5 µl, 7.5 µl, 10 µl. Retentionszeiten: Standard (Veratrumaldehyd) 3.9 min, Desmethoxyyangonin 6.9 min, Dihydrokawain 8.4 min, Yangonin 9.5 min, Kawain 11.0 min, Dihydromethysticin 12.1 min, Methysticin 16.2 min. Das gewählte System zeigt eine gute Basislinientrennung (s. Abbildung 2).

Quantitative Auswertung der Chromatogramme

Der quantitativen Auswertung liegt die Peakfläche der jeweiligen Substanz zugrunde, die nach der Methode des inneren Standards auf diejenige von Veratrumaldehyd bezogen wird.

Bestimmung des Eichfaktors

Der Eichfaktor wurde nach folgender Formel berechnet:

$$K = \frac{\text{Fläche des Standards} \cdot \text{Einwaage der Substanz}}{\text{Fläche der Substanz} \cdot \text{Einwaage des Standards}}$$

Die Reinstoffe Yangonin (11.23 mg), Desmethoxyyangonin (9.57 mg), Kawain (20.75 mg), Dihydrokawain (19.70 mg), Methysticin (20.55 mg), Dihydromethysticin (19.53 mg) wurden in 10 ml Dioxan gelöst und jeweils 1 ml dieser Lösung mit je 1 ml und 2 ml Standard-Lösung, (10 ml Veratrumaldehyd / 10 ml Dioxan) versetzt

und über HPLC quantitativ getrennt. Die Eichfaktoren (arithmetisches Mittel aus fünf Messungen) sind in *Abbildung 29* zusammengefaßt.

Substanz	Eichfaktor (k)	rel. Standardabweichung
Desmethoxyyangonin	0.405	$\pm 3.2 \%$
Dihydrokawain	1.807	$\pm 2.3 \%$
Yangonin	0.548	$\pm 3.1 \%$
Kawain	0.243	$\pm 2.8 \%$
Dihydrokawain	1.205	$\pm 3.5 \%$
Methysticin	0.555	$\pm 4.1 \%$

Abb. 29: Eichfaktoren der Kawapyrone

Die Eichfaktoren gelten jeweils für eine bestimmte Säule und wurden nach mehreren Messungen überprüft, um evtl. Säulenveränderungen festzustellen.

3.2.2.2 Quantitative HPLC-Bestimmung der Kawapyrone in der Droge

Probenvorbereitung

Zur Bestimmung der Kawapyrone wurden je fünf Proben vorbereitet. 1 g gepulverte Droge, genau gewogen, wurden mit 3mal 100 ml Dichlormethan 1 h auf dem Wasserbad unter Rückfluß extrahiert. Die Droge wurde jeweils abfiltriert und mit je 50 ml Dichlormethan nachgewaschen. Die vereinigten Extrakte wurden im Rota-

tionsverdampfer bei 40 °C zur Trockne eingeengt. Der Rückstand wurde in Dioxan aufgenommen und in einem Meßkolben, in dem zuvor 1 ml Standard-Lösung (10 mg Veratrumaldehyd in 1 ml Dioxan) einpipettiert worden war, auf ein Volumen von genau 10 ml aufgefüllt mit Dioxan.

Quantitative Trennung der Kawapyrone

Die quantitative HPLC-Trennung der Kawapyrone erfolgte in gleicher Weise wie für das Modellgemisch (3.2.2.1). Einspritzmenge 5 µl. Die quantitative Auswertung der Chromatogramme erfolgt nach der Formel:

$$\% \text{ Substanz} = \frac{k \cdot \text{Peakfläche}_{\text{Subst.}} \cdot \text{mg Standard} \cdot 100}{\text{Gesamteinwaage der Probe} \cdot \text{Peakfläche}_{\text{Standard}}}$$

Die Ergebnisse sind in *Abbildung 30* zusammengefaßt.

Droge	Substanz	Gehalt (g / 100 g)				
		DMY	DHK	Y	K	gesamt
Viti	0.98	0.56	1.04	1.80	0.50	6.58
	$\pm 1.66 \%$	$\pm 4.33 \%$	$\pm 2.49 \%$	$\pm 2.49 \%$	$\pm 3.40 \%$	$\pm 2.28 \%$
Samoa	0.57	1.04	1.74	2.14	0.83	8.31
	$\pm 3.20 \%$	$\pm 3.02 \%$	$\pm 7.82 \%$	$\pm 4.48 \%$	$\pm 2.83 \%$	$\pm 6.78 \%$
Hawaii	0.78	0.64	0.98	1.18	0.72	5.50
	$\pm 2.02 \%$	$\pm 3.78 \%$	$\pm 2.16 \%$	$\pm 3.31 \%$	$\pm 2.23 \%$	$\pm 3.45 \%$
						$\pm 2.47 \%$

Abb. 30: Gehalt an Kawapyronen (g / 100 g) von Drogen unterschiedlicher Provenienz arithmetisches Mittel aus fünf Proben (rel. Standardabweichung in %)

Droge	Substanz prozentuale Verteilung					
	Provenienz	DMY	DHK	Y	K	M
Viti		14.83	8.48	15.84	27.24	7.64
		$\pm 1.08 \%$	$\pm 2.95 \%$	$\pm 1.01 \%$	$\pm 0.99 \%$	$\pm 1.44 \%$
Samoa		6.88	12.62	20.91	25.72	9.99
		$\pm 3.20 \%$	$\pm 7.13 \%$	$\pm 3.87 \%$	$\pm 1.09 \%$	$\pm 2.90 \%$
Hawaii		14.06	11.56	17.88	21.45	13.15
		$\pm 1.28 \%$	$\pm 2.60 \%$	$\pm 2.16 \%$	$\pm 1.68 \%$	$\pm 1.06 \%$
						$\pm 1.42 \%$

Abb. 31: Verteilung der Pyrone in der Droge (Gesamtpyrone = 100 %) arithmetisches Mittel aus fünf Proben (rel. Standardabweichung in %)

3.2.3 Halbquantitative dc Bestimmung von Flavokawin A und B

Probenvorbereitung

10 g gepulverte Droge wurden mit 3mal 100 ml Dichlormethan im heißen Wasserbad unter Rückfluß extrahiert. Die Droge wurde jeweils abfiltriert und mit 50 ml Dichlormethan nachgewaschen. Die vereinigten Extrakte und die Waschflüssigkeit wurden im Rotationsverdampfer zur Trockne eingeeingt. Der Rückstand wurde in Dichlormethan aufgenommen und in einem Meßkolben auf ein Volumen von genau 10 ml mit Dichlormethan aufgefüllt, so daß eine Lösung 1 g Droge / 1 ml Lösungsmittel resultierte. Es wurden je zwei Proben hergestellt.

Vergleichslösung

1 ml Flavokawin A und 1 mg Flavokawin B wurden jeweils in einen Meßkolben überführt und mit Dichlormethan auf ein Volumen von genau 10 ml aufgefüllt.

Methode

Visueller Fleckenvergleich

Die Vergleichslösung und Extraktlösung wurden jeweils in den Konzentrationen 10 - 70 µl auf DC-Kieselgel-Platten aufgetragen und im Fließmittelsystem Cyclohexan/Ethylacetat (80 + 20) chromatographiert.

Auswertung der Chromatogramme

Visueller Fleckenvergleich unter der UV-Lampe bei 366 nm (Flavokawin A $R_f = 24$, Flavokawin B $R_f = 30$)

Ergebnisse

Droge	Substanz (mg/10 g Droge)	
Provenienz	Flavokawin A	Flavokawin B
Viti	5	2
Hawaii	6	1
Samoa	7	2

Abb. 32: Gehalt an Flavokawin A und B in Kawadrogen unterschiedlicher Provenienz (mg / 10 g Droge)

3.2.4 Gaschromatographische Bestimmung von β -Sitosterin

Apparatives

Säule: Glas, Länge: 9 ft, iD: 3 mm,

Tägger: Chromosorb G-AW-DMCS, Korn: 60 - 80 mesh,

Flüssige Phase: Silicon OV-17, Belegung: 1.5 %

Temperatur IP: 350 °C, Detektor: 350 °C

Ofen von 120 °C mit 15 °C/min bis 290 °C

Papiervorschub: 0.5 cm/min

Empfindlichkeit: 8

Trägergas: N₂, Menge: 30 ml/min, Vordruck: 0.9 bar

Detektor: FID

Luft: 350 ml/min, Vordruck: 5 bar

H₂: 35 ml/min, Vordruck: 3 bar

Probenvorbereitung

10 g gepulverte Droge wurden mit 3mal 100 ml Dichlormethan im heißen Wasserbad unter Rückfluß extrahiert. Die Droge wurde abfiltriert und mit 50 ml Dichlormethan nachgewaschen. Die vereinigten Extrakte und die Waschflüssigkeit wurden im Rotationsverdampfer eingeeengt. Der Rückstand wurde in Chloroform aufgenommen und in einen Meßkolben auf ein Volumen von genau 10 ml Chloroform aufgefüllt, so daß eine Lösung 1 g Droge pro 1 ml Lösungsmittel resultierte.

Quantitative Auswertung der Chromatogramme

Die quantitative Auswertung der Chromatogramme erfolgt nach der Näherungsmethode durch Ermittlung der Flächen nach der Formel: $F = h \cdot b_{0.5}$

Als Standard wurde eine $5.8 \cdot 10^{-4}$ g/ml β -Sitosterin-Lösung in Chloroform verwendet.

Einspritzmenge: 5 μ l, Retentionszeit: 16.8 min,
10 Messungen.

Es wurden folgende Flächen ermittelt:

218, 240, 200, 204, 235, 215, 225, 235, 200, 244 mm^2

$\bar{x}_{\text{Fläche}} = 221.6 \text{ mm}^2$, $\sigma = \pm 7.6 \%$

Zur Bestimmung des Gehaltes an β -Sitosterin in der Droge wurden je 5mal 5 μ l der Probelösung eingespritzt.

Herrn D. Grunow, am Pharmazeutischen Institut der Freien Universität Berlin, danke ich für die Anfertigung der Gaschromatogramme.

Droge	Fläche mm ²						
Provenienz						$\bar{x}$	rel.Stand.
Samoa	26	31	30	29	30	29.	± 7 %
Hawaii	32	30	32	31	30	31	± 3 %
Viti	56	58	65	62	56	61	± 4 %

Gehalt β -Sitosterin in der Droge

Droge	Gehalt mg / g Droge
Provenienz	
Samoa	0.08
Hawaii	0.08
Viti	0.16

Abb. 33: Gehalt an β -Sitosterin (mg / g Droge) in Drogen unterschiedlicher Provenienz

3.2.5 Untersuchung der Lipoid-Fraktion des Kavarhizoms auf das Vorkommen nicht-lactonischer lipophiler Inhaltsstoffe

3.2.5.1 Herstellung eines Petrolether-Extraktes

6 kg des gepulverten Drogenmaterials (Droge Hawaii) wurden im Soxhlet portionsweise mit 20 l Petrolether extrahiert. Die Droge wurde abfiltriert und mit insgesamt 3 l Petrolether nachgewaschen. Die vereinigten Extrakte und die Waschflüssigkeit

ergaben nach dem Einengen i.Vak. einen Rohextrakt von 90 g. Der Rohextrakt wurde mit 90 g Celite verrieben und mehrere Tage im Trockenschrank bei 30 °C getrocknet.

3.2.5.2 Säulenchromatographische Auftrennung des Extraktes

Der mit Celite verriebene trockene Rohextrakt wurde über eine Trennsäule ($\varnothing$ = 7.5 cm, Länge = 100 cm, Füllhöhe = 75 cm, Kieselgel = 1.8 kg) mit Petrolether/Ethylacetat steigender Polarität (99 + 1 bis 20 + 80) und einer Tropfgeschwindigkeit von 100 Tr./min chromatographiert. Das Eluat wurde in 500-ml-Fractionen gesammelt und durch dc Prüfung in acht Fractionen aufgeteilt.

Fraktionen	Elutionsmittel	Eindampfungsrückstand	
500 ml	Petrolether/ Ethylacetat	g	
1 - 10	99 + 1 bis 98 + 2	3.30	F1*
11 - 18	95 + 5	0.71	F2
19 - 24	90 + 10	0.32	F3
25 - 27	90 + 10	0.64	F4
28 - 35	85 + 15 bis 75 + 25	7.23	F5
36 - 50	75 + 25 bis 65 + 35	22.21	F6*
51 - 65	65 + 35 bis 50 + 50	26.92	F7*
66 - 90	50 + 50 bis 20 + 80	16.90	F8*

* Die Fraktionen wurden nicht bearbeitet

3.2.5.2.1 Isolierung und Eigenschaften von Pinostrobin

Der Eindampfungsrückstand der Fraktion F2 (0.71 g) wurde in Methanol gelöst und bei Raumtemperatur der Kristallisation überlassen. Nach mehrmaligem Umkristallisieren fielen farblose Plättchen mit einem Schmelzpunkt von 100 - 101 °C aus. Die Substanz zeigt gleiches dc Verhalten wie authentisches Pinostrobin.

Der Eindampfungsrückstand F2 (0.71 g) wurde an Kieselgel-F-254-Alufolien chromatographiert.

Fließmittel	hRf	Tl	kw UV	lw UV	Vanillin/H ₂ SO ₄
Petrolether/	55	-	Löschung	-	rot
Ethylacetat	41	-	Löschung	-	braun
80 + 20	34	-	Löschung	-	orangerot*
	29	-	Löschung	-	orange

* Cochromatographie mit authentischem Pinostrobin

Zusammensetzung: $^{12}\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{O}_4$

Mol.-Masse: gef. 270.0887 (ms), ber. 270.0892 (Hochauflösung)

Schmp.: 100 - 101 °C (MeOH)

DC: hRf 52 (Cyclohexan/Chloroform 50 + 50)

34 (Petrolether/Ethylacetat 80 + 20)

Optische Drehung: ± 0 (Chloroform)

UV (CHCl₃): $\lambda_{\text{max}} = 288 \text{ nm}$ ($\epsilon = 19000$) Schulter bei $\lambda_{\text{max}} 325 \text{ nm}$

IR (KBr): $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$ = 600m, 620w, 640m, 660w, 665w, 685m, 700s, 720m, 740m, 800m, 845m, 865w, 895m, 920w, 960w, 990m, 1035w, 1080sh, 1090m, 1155s, 1190m, 1210s, 1260w, 1295sh, 1300s, 1340m, 1350m, 1380s, 1440sh, 1445m, 1465sh, 1495w, 1575m, 1620sh, 1640s, 2820w, 2900w, 2980w, 3030w, 3055w

MS (140°C): m/z (rel.Int./%) = 270 (M^+ , 100), 269 (45), 193 (76), 167 (18), 166 (63), 138 (33), 110 (13), 104 (9), 103 (10), 95 (23), 77 (12), 69 (13)

250-MHz- ^1H -NMR (CDCl_3): δ/ppm = 3.82 (s, 3H, 7-OMe), 2.84 und 3.08 (AB-Teil des ABX-Systems, je 1H, J_{AB} = 17, J_{AX} = 13, J_{BX} = 3), 5.44 (X-Teil des ABX-Systems, 1H, J_{AX} = 13, J_{BX} = 3), 6.07 (s, 2H, 6-H, 8-H, aromat.), 7.44 (m, 5H, aromat. Ring B), 12.02 (s, 1H, 5-OH)

3.2.5.2.2 Isolierung und Eigenschaften von Flavokawin B

Der Eindampfungsrückstand von F3 (0.32 g) wurde in Methanol aufgenommen und bei Raumtemperatur der Kristallisation überlassen. Die Kristalle wurden abfiltriert und mit vorgekühltem Methanol gewaschen. Nach mehrmaligem Umkristallisieren fielen gelborange Nadeln (110 mg) mit einem Schmelzpunkt von 80 - 81 °C.

dc Verhalten der Fraktion 3

Fließmittelsystem	hRf	Tl	kw UV	lw UV	Vanillin/H ₂ SO ₄
Petrolether/Ethyl-	32	-	Löschung	-	-
acetat	28	-	Löschung	-	-
(80 + 20)	26	-	Löschung	-	gelb
	24	gelb	Löschung	dunkel	orange*
	17	-	-	blau	graublau

Zusammensetzung: $^{12}\text{C}_{17}\text{H}_{16}\text{O}_4$

Mol.-Masse: gef. 284.1056 (ms), ber. 284.1044 (Hochauflösung)

Schmp.: 80 - 81 °C

DC: hRf 24 (Petrolether/Ethylacetat 80 + 20)

UV (CHCl₃): $\lambda_{\text{max}} = 340 \text{ nm}$ ($\epsilon = 26500$)

IR (KBr): $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1} = 695\text{m}, 745\text{s}, 775\text{w}, 790\text{w}, 820\text{s}, 845\text{w}, 870\text{m}, 925\text{m}, 945\text{w}, 975\text{m}, 985\text{m}, 990\text{w}, 1000\text{w}, 1030\text{sh}, 1035\text{m}, 1070\text{w}, 1115\text{m}, 1165\text{m}, 1220\text{s}, 1285\text{m}, 1300\text{w}, 1320\text{sh}, 1345\text{s}, 1385\text{w}, 1415\text{m}, 1445\text{m}, 1448\text{m}, 1485\text{w}, 1545\text{sh}, 1580\text{m}, 1625\text{s}, 2850\text{w}, 2940\text{w}, 2980\text{w}, 3010\text{w}, 3050\text{w}, 3080\text{w},$

MS (120 °C): m/z (rel.Int./%) = 284.1056 (M^+ , 87), 283.0978 (63), 267.1006 (9.4), 256.1087 (10), 207.0655 (100), 181.0496 (17), 152.0481 (8), 103.0553 (8)

250-MHz- ^1H -NMR (CDCl_3): δ/ppm = 3.90 und 3.84 (je s, 4'- und 6'-OMe), 5.95 (m, 3'- und 5'-H), 6.45 (m, 5H, arom. Ring B), 6.72 (d, $\beta\text{-H}$, J_{AB} = 15.5), 6.84 (d, $\alpha\text{-H}$, J_{AB} = 15.5), 14.29 (s, 2-OH)

3.2.5.2.3 Isolierung und Eigenschaften von S1

Die Fraktion F4 (0.64 g) wurde in Methanol/Ether gelöst und zur Kristallisation bei Raumtemperatur belassen. Es fielen gelbe Plättchen (50 mg) aus. Schmelzpunkt 166 - 168 °C.

dc Verhalten der Fraktion 4

Fließmit- telsystem	hRf	Tl	kw UV	lw UV	Vanillin/ H_2SO_4	Liebermann- Burchard
Petrol- ether/ Ethyl- acetat	27	-	Löschung	-	rotbraun	grünblaue Fluoreszenz
	23	-	Löschung	-	braun	-
	7	-	-	gelbgrün grau		-
(80 + 20)						
Cyclohexan/ Chloroform	34	-	Löschung	-	-	-
	20	-	Löschung	-	rotbraun	grünblaue Fluoreszenz
(50 + 50)	8	-	Löschung	gelbgrün grau		-

Zusammensetzung: $\text{C}_{29}\text{H}_{46}\text{O}_2$

Mol.-Masse: gef. 426.3533 (ms), ber. 426.3486 (Hochauflösung)

DC: hRf 27 (Petrolether/Ethylacetat 80 + 20)

20 (Cyclohexan/Chloroform 50 + 50)

UV (CHCl_3): $\lambda_{\text{max}} = 252 \text{ nm}$ ($\epsilon = 11200$)

Optische Drehung: $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -44^{\circ}$ (CHCl_3 , $c = 1.066 \text{ g/l}$)

IR (KBr): $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1} = 665\text{w}, 700\text{w}, 800\text{s}, 868\text{m}, 925\text{w}, 945\text{w}, 1025\text{sh}, 1080\text{sh}, 1180\text{sh}, 1195\text{w}, 1225\text{m}, 1245\text{sh}, 1265\text{sh}, 1330\text{w}, 1375\text{sh}, 1380\text{m}, 1412\text{m}, 1465\text{sh}, 1460\text{sh}, 1605\text{m}, 1685\text{s}, 2845\text{sh}, 2865\text{sh}, 2920\text{sh}, 2960\text{m}$

MS (140°C): m/z (rel.Int./%) = 426 (M^+ , 47), 411 (11), 408 (19), 398 (26), 285 (22), 283 (5), 275 (13), 243 (30), 161 (12), 152 (12), 147 (15), 138 (20), 137 (70), 136 (33), 135 (19), 134 (12), 121 (16), 119 (11), 109 (30), 107 (20), 105 (17), 95 (26), 93 (20), 91 (20), 85 (17), 83 (23), 80 (28), 79 (27), 71 (19), 69 (42), 57 (43), 55 (68), 43 (100)

400-MHz- ^1H -NMR (CDCl_3): $\delta/\text{ppm} = 6.18$ (s, 1H, 4-H), 2.69 (dd, 7 -H, $J_{7\alpha,\beta} = 15.5$ und $J_{7\beta,8} = 4$), 2.035 (dd, 7 -H, $J_{7\alpha,\beta} = 15.5$, $J_{7\alpha,8} = 12.5$), 1.17 (s, 3H, 19-OMe), 0.715 (s, 3H, 18-OMe), 0.935 (d, 21-H, $J = 6$), 0.830 (d, 3H, 26-H, $J = 8$), 0.815 (d, 3H, 27-H, $J = 8$), 0.840 (t, 3H, $J = 9$)

3.2.5.3 Rechromatographie von F'

Die Eindampfungsrückstände der Mutterlaugen von F3 und F4 und

und die Fraktion F5 wurden vereinigt, in Chloroform gelöst und mit 10 g Celite verrieben (F' = Eindampfungsrückstand 8 g). Das Lösungsmittel wurde im Rotationsverdampfer verjagt, so daß ein streufähiges Pulver resultierte. F' wurde über eine, mit Hexan/Methylethylketon (95 + 5) aufgeschlemmte Kieselgelsäule gebracht und mit diesem Fließmittelgemisch steigender Polarität rechromatographiert (Kieselgelsäule $\varnothing = 6$ cm, Länge = 100 cm, Füllhöhe = 75 cm, Kieselgel = 600 g, Tropfgeschwindigkeit = 80 Tr. /min, 18.5 ml Fraktionen). Nach dc Prüfung wurde in sechs Fraktionen geteilt. .

Säulenchromatographische Auftrennung

Fraktionen 15 ml	Elutionsmittel Hexan/Methyl- ethylketon	Eindampfungs- rückstand (g)	Fraktionsbe- zeichnung
1 - 30	95 + 5	0.26	F'1*
31 - 80	90 + 10	0.58	F'2*
81 - 170	85 + 15	1.40	F'3*
171 - 200	85 + 15	0.31	F'4
201 - 280	80 + 20	1.20	F'5
281 - 350	75 + 25	1.64	F'6

* Fraktionen wurden nicht bearbeitet

dc Verhalten der Fraktionen F'4 bis F'6

Fraktion	Fließmittel	hRf	Tl	kv UV	lw UV	Vanillin/ H ₂ SO ₄	Naturstoff- reagens
	Hexan/Methylethylketon (80 + 20)						
F'4		29	gelb dunkel		dunkel	orange	-
		28	- dunkel		-	orangerot	grünblaue Fluoreszenz
F'5		28	-	-	blau	grau	-
		26	-	-	-	graublau	-
		23	gelb dunkel		dunkel	orangerot	-
F'6		26	-	-	-	blaugrau	-
		23	gelb dunkel		dunkel	orangerot	-
							Cochromatogra- phie mit Flavon- kavin A

3.2.5.3.1 Isolierung und Eigenschaften von S2

Der Eindampfungsrückstand von F'4 wurde in Cyclohexan/Ethylacetat (80 + 20) aufgenommen. Bei Raumtemperatur kristallisierten farblose Nadeln (30 mg) mit einem Schmelzpunkt von 117 - 117.5 °C.

Zusammensetzung: $^{12}\text{C}_{17}\text{H}_{16}\text{O}_5$

Mol.-Masse: gef. 300.0996 (ms), ber. 300.0993 (Hochauflösung)

Schmp.: 117 - 117.5 °C

DC: hRf 28 (Hexan/Methylethylketon 80 + 20)

UV (MeOH): λ_{max} = 288 nm (ϵ = 19700), Schulter bei λ_{max} = 325 nm

Optische Drehung: $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +0^\circ$

IR (KBr): $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$ = 615m, 645w, 655m, 665w, 720w, 745m, 795sh, 805sh, 830m, 840sh, 885m, 965w, 990w, 1030m, 1065w, 1075w, 1090m, 1150w, 1165s, 1115w, 1203m, 1215s, 1262m, 1275m, 1305s, 1355m, 1375sh, 1385sh, 1435m, 1445m, 1465m, 1485w, 1522m, 1572m, 1635s, 1640sh, 2840m, 2940w, 2945sh, 2978w, 3015w, 3050w, 3075sh, 3095sh

MS (130 °C) = m/z (rel.Int./%) = 300 (M^+ , 60), 299 (30), 285 (1.7), 283 (3.6), 272 (2.3), 257 (3), 193 (16), 192 (6), 167 (9), 166 (19), 138 (16), 135 (13), 134 (100), 123 (4), 122 (7), 121 (74), 119 (24), 108 (8), 95 (16), 91 (23), 77 (7)

250-MHz- ^1H -NMR (CDCl_3): δ/ppm = 6.05 und 6.09 (je d, je 1H, 6-H, 8-H, J = 2.2), 7.41 (m, 2H, 3'-H, 5'-H, Ring B), 6.96 (m, 2H, 2'-H, 6'-H, Ring B), 3.82 und 3.84 (je s, je 3H, 4'-, 7-OMe), 5.35 - 5.42 (dd, 1H, HX, J_{AX} = 13Hz, J_{BX} = 3 Hz), 2.76 - 2.84 (dd, 1H, HB, J_{BX} = 3 Hz, J_{AB} = 17), 3.06 - 3.18 (dd, 1H, HA, J_{AX} = 13 Hz, J_{AB} = 17 Hz), 12.06 (s, 1H, 5-OH)

3.2.5.3.2 Isolierung und Eigenschaften von β -Sitosterin

Aus der Fraktion F'5 (1.2 g) fielen nach Lösen in heißem MeOH feine farblose Kristalle (55 mg) mit einem Schmelzpunkt von 134 - 136 $^{\circ}\text{C}$ aus.

Zusammensetzung: $^{12}\text{C}_{29}\text{H}_{50}\text{O}$

Mol.-Masse: gef. 414.3850, ber. 414.3861 (Hochauflösung)

Schmp: 134 - 136 $^{\circ}\text{C}$

DC: hRf 26 (Hexan/Methylethylketon 80 + 20)

UV: -

Optische Drehung: $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -37^{\circ}$ (CHCl_3 , c = 1.9 g/l)

IR (KBr): $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$ = 805m, 845w, 885w, 925w, 960m, 985w, 1022m, 1060s, 1105w, 1130w, 1195w, 1375sh, 1380sh, 1440sh, 1465s, 1640w, 1650w, 2850sh, 2868m, 2940s, 2960s, 3440s

MS: m/z (rel.Int./%) = 414 (M^+ , 40), 400 (10), 399 (14), 395 (20), 381 (14), 367 (5), 329 (19), 303 (25), 273 (16), 255 (25), 231 (22), 213 (37), 199 (11), 185 (9), 173 (15), 163 (20), 161 (25), 159 (30), 149 (15), 147 (24), 143 (14), 137 (10), 135 (23), 133 (30), 131 (20), 129 (9), 123 (17), 122 (8), 121 (24), 120 (21)

250-MHz- ^1H -NMR (CDCl_3): δ/ppm = 0.68 (s, 3H, 18-OMe), 0.78 2.3 (zahlreiche sich überlagernde Resonanzen), 0.92 (d, 1H, 21-H), 1.05 (s, 3H, 19-OMe), 3.5 (m, 1H, 3-H), 5.53 (m, 1H, 6-H)

3.2.5.3.3 Isolierung und Eigenschaften von Flavokawin A

Der Eindampfungsrückstand von F'6 (1.64 g) wurde in MeOH aufgenommen. Nach mehrmaligem Umkristallisieren wurden gelborange Kristalle erhalten (350 mg), die bei 114 - 115.5 °C schmelzen.

Zusammensetzung: $^{12}\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{O}_5$

Mol.-Masse: gef. 314.1156, (ms), ber. 314.1149 (Hochauflösung)

Schmp.: 114 - 115.5 °C

DC: hRf 23 (Hexan/Methylethylketon 80 + 20)

UV (CHCl_3): λ_{max} = 364 nm (ϵ = 35 400)

IR (KBr): $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$ = 615m, 650w, 675w, 715w, 805sh, 815sh, 825s, 900m, 945m, 975m, 1015sh, 1025s, 1035m, 1060w, 1150m, 1160m, 1175s, 1255s, 1295s, 1310w, 1395m, 1410w, 1420w, 1445m, 1460w, 1515m, 1545sh, 1550m, 1575sh, 1580m, 1605m, 1625m, 2850w, 2945w, 2980w, 3000w, 3080w

MS: m/z (rel.Int./%) = 314 (M^+ , 53), 313 (48), 297 (8), 286 (7), 271 (5), 207 (27), 182 (10), 181 (29), 180 (28), 166 (8), 161 (39), 152 (18), 143 (13), 137 (11), 134 (40), 133 (12), 121 (46), 119 (16), 115 (11), 95 (10), 92 (17), 91 (100), 89 (12), 86 (46), 77 (19)

250-MHz- ^1H -NMR (CDCl_3): δ/ppm = 4.86, 4.88 und 4.92 (je s, je 3H, 4'-, 6'- und 4-OMe), 6.35 (m, 3'- und 5'-H), 6.95 (m, 3- und 5-H), 7.85 (m, 2-H, 6-H), 7.82 (s, 2H, α,β -H), 14.43 (s, 1H, 2'-OH).

3.2.6 Quantitative HPLC-Bestimmung der Kawapyrone in Wassermazeraten

Probenvorbereitung

10 g gepulverte Droge wurden genau gewogen und mit 100 ml Wasser 10 min bei Raumtemperatur (20 °C) einer Wirbelextraktion unterzogen (Gerät Comercial blendor, Firma Waring). Die Droge wurde abgesaugt und das Filtrat mit 5mal 400 ml Dichlormethan ausgeschüttelt, über Natriumsulfat getrocknet und im Rotations-

verdampfer zur Trockne eingeengt. Der Eindampfungsrückstand wurde in Dioxan aufgenommen und in einen Meßkolben überführt, in dem zuvor 1 ml Standard-Lösung (10 mg/ml) einpipettiert worden war, und auf ein Volumen von genau 10 ml aufgefüllt. Es wurden je fünf Proben der Drogen unterschiedlicher Provenienz hergestellt.

HPLC-Trennung der Kawapyrone

Die quantitative HPLC-Bestimmung erfolgt in gleicher Weise wie für die Dichlormethanextrakte (3.2.2.2). Die Substanzen wurden über eine Kieselgelsäule (SI 100, 7 μ m, Länge = 250 mm) mit dem Fließmittelgemisch Dioxan/Hexan (18 + 82) und einer Flußrate 2 ml/min, 130 bar chromatographiert. Die Detektion erfolgte über ein UV-Gerät bei 250 nm mit der Empfindlichkeit 0.64 E.

Auswertung der Chromatogramme

Der quantitativen Auswertung liegt die Peakfläche der jeweiligen Substanz zugrunde, die nach der Methode des inneren Standards auf diejenige von Veratrumaldehyd bezogen wird (s. 3.3.2.2.2).

Die Ergebnisse sind in *Abbildung 34 und 35* zusammengefaßt.

mg Substanz in 100 ml Mazerat							
Droge	Provenienz	DMY	DHK	Y	K	DHM	M gesamt
Viti		5.70	21.73	2.83	26.30	6.83	8.29
		± 1.75 %	± 4.42 %	± 4.95 %	± 0.87 %	± 6.30 %	± 4.22 %
							71.47
							± 1.99 %
Hawaii		3.20	26.36	2.73	25.33	6.65	6.25
		± 10.6 %	± 6.61 %	± 5.86 %	± 0.71 %	± 5.71 %	± 8.96 %
							70.51
							± 1.29 %
Samoa		4.52	35.17	2.90	18.92	9.65	5.07
		± 2.88 %	± 2.08 %	± 7.59 %	± 2.10 %	± 5.60 %	± 7.30 %
							76.26
							± 3.04 %

Abb. 34 : Gehalt an Kawapyronen von Drogen unterschiedlicher Provenienz in 100 ml Wasser-mazerat (mg Substanz / 100 ml Mazerat aus 10 g Droge).

Mittelwerte aus fünf Proben und rel. Standardabweichung in %

Droge	Substanz (g / 100g)					
	Provenienz	DMY	DHK	Y	K	M
Viti		7.98	30.40	3.96	36.80	11.60
		± 0.75	± 2.53	± 4.80	± 2.17	± 5.00
Hawaii		4.56	37.20	3.87	35.89	8.87
		± 11.18	± 5.81	± 7.05	± 1.11	± 9.36
Samoa		5.93	46.20	3.78	24.85	6.64
		± 2.19	± 2.88	± 9.84	± 1.49	± 10.40

Abb. 35: Prozentuale Verteilung der Kawapyrone im Wassermazerat (Summe = 100 Prozent) arithmetisches Mittel aus fünf Proben und prozentu relative Standardabweichung in Prozent

3.2.7 Halbquantitative dc Bestimmung von Flavokawin A und B in Wassermazeraten

Probenvorbereitung

10 g Drogenpulver wurden mit 100 ml Wasser bei Raumtemperatur (20 °C) einer Wirbelextraktion unterzogen (10 min). Die Droge wurde abfiltriert und das Filtrat mit 5mal 400ml Dichlormethan ausgeschüttelt. Die vereinigten Dichlormethanauszüge wurden über Natriumsulfat getrocknet und im Rotationsverdampfer zur Trockne eingeeengt. Der Eindampfungsrückstand wurde in Chloroform aufgenommen und in einen Meßkolben überführt und auf ein Volumen von genau 10 ml aufgefüllt.

Vergleichslösung

1 mg Flavokawin A und 1 mg Flavokawin B wurden in je 10 ml Chloroform gelöst.

Auswertung der Chromatogramme: durch visuellen Fleckenvergleich.

Die Vergleichslösungen und Extraktlösungen wurden jeweils in den Konzentrationen 10 bis 70 µl auf DC-Kieselgel-Platten aufgetragen und im Fließmittelsystem Cyclohexan/Ethylacetat (80 + 20) chromatographiert. Auswertung der Chromatogramme erfolgt durch visuellen Fleckenvergleich unter der UV-Lampe bei 366 nm (Flavokawin A, $R_f = 24$, Flavokawin B, $R_f = 30$). Die Ergebnisse sind in *Abbildung 36* zusammengefaßt.

Droge	Gehalt (mg / 100 ml Mazerat)	
Provenienz	Flavokawin A	Flavokawin B
Viti	0.5	0.1
Samoa	0.5	0.2
Hawaii	0.6	0.1

Abb. 36: Gehalt an Flavokawin A und B in wäßrigen Mazeraten
(mg / 100 ml)

3.2.8 Bestimmung von β -Sitosterin mittels Gaschromatographie

Probenvorbereitung

10 g Drogenpulver wurden bei Raumtemperatur mit 100 ml Wasser einer Wirbelextraktion unterzogen. Nach 10 min wurde die Droge abgesaugt und das Filtrat mit 5mal 400 ml Dichlormethan ausgeschüttelt. Die vereinigten Dichlormethananzüge wurden über Natriumsulfat getrocknet und im Rotationsverdampfer zur Trockne eingengt. Der Rückstand wurde in Chloroform aufgenommen und in einen Meßkolben überführt und auf ein Volumen von genau 10 ml aufgefüllt.

Apparatives: siehe 3.2.4

Quantitative Auswertung der GC-Chromatogramme

Die quantitative Auswertung der Chromatogramme erfolgt nach der Näherungsmethode durch Ermittlung der Flächen (Bedingungen s. 3.2.4)

Zur Bestimmung des Gehaltes an β -Sitosterin im Wassermazerat wurden je 5 x 5 μ l der Probelösung eingespritzt.

Ergebnisse

Droge	Fläche (mm ²)						$\bar{x}$	rel. Standardab.
Provenienz								
Viti	90	99	106	98	108	100	± 7 %	
Samoa	85	84	81	72	82	81	± 6 %	
Hawaii	61	55	63	66	63	62	± 6 %	

Abb. 37: Flächen in mm²

Droge	Gehalt (mg / 100 ml Mazerat)
Provenienz	
Viti	0.26
Samoa	0.21
Hawai	0.16

Abb. 38: Gehalt an β -Sitosterin in 100 ml Wassermazerat aus Drogen unterschiedlicher Provenienz (mg/100 ml aus 10 g Droge)

3.2.9 Bestimmung der Oberflächenspannung wäßriger Mazerate

Probenvorbereitung

10 g gepulverte Droge wurden mit 100 ml Wasser bei Raumtemperatur (20 °C) einer Wirbelextraktion unterzogen (10 min). Die Droge wurde abfiltriert und vom Filtrat die Oberflächenspannung ermittelt.

Bestimmung der Oberflächenspannung

Die Oberflächenspannung wurde mit einem Interfacialtensiometer nach Lecomte du Noüy (Fa. Krüss) bestimmt. Temperatur 25 °C. Das Gerät wurde mit dem zur Herstellung der Mazerate verwendeten Wasser überprüft.

Ergebnisse

Oberflächenspannung (dyn/cm)				
Aqua dest.	1	2	3	
71.6	46.6	43.5	45.0	
71.5	46.6	44.1	45.1	
71.6	46.5	44.5	45.0	
71.9	46.4	44.2	45.1	
72.0	46.4	44.5	45.1	
71.9	46.1	45.0	45.2	
71.8	46.4	44.3	45.1	$\bar{x}$
0.3 %	±0.4 %	±1.1 %	±0.2 %	rel.Standardab.

Abb. 39: Oberflächenspannung (dyn/cm) wäßriger Mazerate aus Drogen unterschiedlicher Provenienz (1 = Hawaii, 2 = Viti, 3 = Samoa) im Vergleich zur Oberflächenspannung von Aqua dest. (25 °C)

3.2.10 Bestimmung der Sättigungskonzentration von Kawa-Reinstoffen in Wasser

Probenvorbereitung: Die Reinstoffe Yangonin, Desmethoxyyangonin,

Kawain, Dihydromethysticin, Methysticin (je 5 mg) und Dihydrokawain (15 mg) wurden in einen Meßkolben von 50 ml gegeben und dieser mit Wasser von 21 °C aufgefüllt (je 3 Proben).

Zur Bestimmung der Sättigungskonzentration wurde eine Schüttelapparatur der Firma Köttermann, Schüttelintensität 5, verwendet. Die Proben wurden 24 h geschüttelt. Nach Abschalten der Apparatur wurde nach fünf weiteren Stunden der Gehalt spektralphotometrisch ermittelt. Um zu überprüfen, ob bereits nach 24 h die Sättigungskonzentration erreicht ist, wurde nochmals 24 h geschüttelt. Gegenüber der ersten Messung zeigten sich keine erhöhten Werte.

Spektralphotometrische Auswertung

Der Gehalt wurde nach der Formel $c = \frac{E_{\text{gemessen}}}{E'_i \cdot d}$ ermittelt.

E'_i wurde nach der Formel $E'_i = \frac{10 \cdot \epsilon}{\text{Molmasse}}$ berechnet

Substanz	λ_{max} (nm)	ϵ	E'_i
Methysticin	226	25119	917
Dihydromethysticin	232	15136	548
Kawain	245	27542	1197
Dihydrokawain	236	13804	595
Yangonin	364	21380	829
Desmethoxyyangonin	344	26300	1154
Flavokawin A	364	35481	1130
Flavokawin B	340	26915	948

ϵ = molarer Extinktionskoeffizient, E'_i = spez. Extinktionskoeffizient, d = Schichtdicke in cm

mg / 100 ml Wasser						
	M	DHM	K	DHK	Y	DMY
	1.23	1.46	2.00	8.40	0.27	0.48
	1.17	1.37	2.17	8.07	0.24	0.43
	1.20	1.49	2.17	7.73	0.24	0.50
$\bar{x}$	1.20	1.44	2.10	8.10	0.25	0.47
σ	$\pm 2 \%$	$\pm 4.3 \%$	$\pm 4.5 \%$	$\pm 4.2 \%$	$\pm 7.2 \%$	$\pm 7.5 \%$

Abb. 40: Sättigungskonzentration in 100 ml Wasser bei 21°C

3.2.11 Prüfung auf Saponine in der Droge

Probenvorbereitung

100 g gepulverte Droge wurden mit 3mal 1 l Ethanol (70proz.) im Ultraturax extrahiert. Die Droge wurde abfiltriert und das Extraktionsmittel im Rotationsverdampfer eingengt, bis kein Ethanol mehr vorhanden war. Der wäßrige Rückstand (100 ml) wurde mit 3mal 300 ml Butanol ausgeschüttelt. Die vereinigten Butanol-Phasen wurden zur Trockne eingengt und der Rückstand in 10 ml Ethanol (70proz.) aufgenommen.

Vergleichslösung: Rhuscusextrakt-Lösung 2 %

dc Trennung

10 bis 50 µl der Probelösung und 10 µl Vergleichslösung wurden über Kieselgel-Platten im Fließmittelgemisch Chloroform/Methanol/Wasser (65 + 35 + 10) untere Phase chromatographiert.

Auswertung des Chromatogramms

Sprühreagens: 1 ml Citratblut (Ratten) wurden mit 9 ml physiologischer Kochsalzlösung versetzt. Nach Besprühen konnten in der Kawadroge keine hämolýtisch wirkenden Saponine ermittelt werden. Im Rhuscusextrakt wurden Saponine durch Ausbildung hämolýtischer Höfe auf dem Chromatogramm nachgewiesen.

4 ZUSAMMENFASSUNG

Ausgehend von den Ergebnissen pharmakologischer Arbeiten (J.P. BUCKLEY et al., 1964, 1967 und R.KRETZSCHMAR et al., 1974), daß lipophile Extrakte die zentraldämpfenden Wirkstoffe der Droge enthalten, wurde das Kavarhizom erneut auf das Vorkommen lipophiler Stoffe untersucht.

Die bereits früher isolierten Kawapyrone, Flavokawine, sowie β -Sitosterin und Pinostrobin konnten erneut gefunden werden. Zwei bisher unbekannte Drogeninhaltsstoffe wurden isoliert und als Stigmast-4-en-3,6-dion und 5-Hydroxy-4',7-dimethoxyflavanon identifiziert.

Die Herstellung des in Polynesien üblichen Kawatrankes wurde labormäßig simuliert. Es war die Frage zu klären, ob pharmakologisch wirksame Dosen in den Kaltwasserauszug gehen.

Aufgrund von HPLC-Messungen liegen in der Droge im Durchschnitt 5.5 bis 8.3 Prozent Gesamtpyrone vor. Davon entfallen etwa 4.8 Prozent auf die Pyrone vom Kawain- und Dihydrokawain-Typ, 1/3 auf die Yangonin-Derivate. Von diesen Pyronen gehen in 100 ml Wassermazerat (10 g Droge) etwa 70 mg Gesamtpyrone, die sich folgendermaßen verteilen:

Dihydrokawain (28 mg)	Kawain (23 mg)
Dihydromethysticin (8 mg)	Methysticin (6 mg)
Desmethoxyyangonin (4.5 mg)	Yangonin (3 mg)

Aus der Droge lassen sich somit durch Mazeration mit Wasser etwa 1/10 der Gesamtpyrone extrahieren. Die Extrahierbarkeit der individuellen Pyrone variiert allerdings: DHK > K > DHM > DMY > M > Y, wobei von DHK etwa 1/3 aus der Droge in das Mazerat gelangen, von Yangonin hingegen nur 3 Prozent.

Untersuchungen der maximalen Löslichkeit von Reinstoffen in Wasser erbrachten das interessante Ergebnis, daß die Pyrone über ihre Löslichkeit in reinem Wasser hinaus aus der Droge in ein Mazerat gelangen. Die maximale Löslichkeit der Reinstoffe bei Raumtemperatur in Wasser (100 ml) beträgt:

Dihydrokawain (8 mg)	Kawain (2.2 mg)
Dihydromethysticin (1.5 mg)	Methysticin (1.2 mg)
Desmethoxyyangonin (0.5 mg)	Yangonin (0.3 mg).

Danach wird aus dem Drogenverband etwa das Fünffache an Kawagesamtpyronen mit Wasser mazeriert. Dieses Ergebnis kann als experimenteller Beleg für die häufig geäußerte Ansicht dienen, daß galenische Zubereitungen aus der Gesamtdroge stärker wirksam sind als ein einzelner definierter Wirkstoff.

Daß möglicherweise Lösungsvermittler (hydrotrope Begleitstoffe), den Effekt bewirken, dafür sprechen Meßergebnisse der Oberflächenspannung wäßriger Mazerate. Die Oberflächenspannung ist auf 45 dyn/cm herabgesetzt (entsprechend einer 0.04 prozentigen wäßrigen Dodecylnatriumsulfat-Lösung). Neue Pyrone im Wasser-mazerat konnten nicht nachgewiesen werden.

Die Flavokawine, sowie β -Sitosterin sind in einer Konzentration

von etwa 0.1 Prozent und 0.02 Prozent in der Droge enthalten. Im Wassermazerat sind etwa 0.7 mg Flavokawine und 0.2 mg β -Sitosterin nachweisbar, so daß sie aufgrund der geringen Konzentrationen bezüglich der Wirkstofffrage außer acht gelassen werden können. Weitere lipophile Stoffe konnten nicht nachgewiesen werden.

Nach diesen Ergebnissen ist die Frage geklärt, ob durch Mazeration mit Wasser tatsächlich eine wirksame Dosis zugeführt wird. Nimmt man an, daß eine Schale des Kawatrankes etwa 30 g Droge entspricht, so würde pro Person eine Konzentration von etwa 210 mg Gesamtpyrone zugeführt. Dies ist aufgrund klinischer Untersuchungen eine Dosis, die tranquillierende Wirkung erwarten läßt.

L I T E R A T U R

- ACHENBACH, H. und KARL, W., Chem.Ber. **103**, 2535 (1970);
 -,- und REGEL, W., Chem.Ber. **105**, 2182 (1972);
 -,- und SMITH, S., Chem.Ber. **104**, 2688 (1971);
 -, und WITTMANN, G., Tetrahedron Lett. **37**, 3259 (1970).
- BELLAMY, L.J., Ultrarot-Spektroskopie, 2. Aufl., Steinkopfverlag, Darmstadt 1966.
- BORSCHKE, W. und BLOUNT, B.R., Ber.Dtsch.Chem.Ges. **66**, 803 (1933);
 -, MEYER, C.H. und PEITZSCH, W., Ber.Dtsch.Chem.Ges. **60**, 2113 (1927);
 -, und PEITZSCH, W. Ber.Dtsch.Chem.Ges. **63**, 2414 (1930);
 -, und LEWINSON, M., Ber.Dtsch.Chem.Ges. **66**, 1792 (1933).
- BUCKLEY, J.P., FURGIUELE A.R. und O'HARA, M.J., Public Health Serv. Publ. **1645**, 41 (1967).
- BU'LOCK, J.D. und SMITH, H.G., J.Chem.Soc. **1960**, 502.
- CHMIELEWSKA, I., CIESLAK, J. et al., Tetrahedron **4**, 36 (1958).
- CHUANG, C., Dissertation FU Berlin 1979.
- CLARK-LEWIS, J.W., Configurations of Optically Activ Flavonoid Compound, Reviews of Pure und Applied Chemistry, **12**, 96 (1962).
- COCLERS, L., MOTTET, J., STOBEL, J.B.T. und PARMENTIER, J., J.Pharm.Belg. **9-10**, 415 (1969).
- CSUPOR, L., Arch.Pharm. (Weinheim, Ger.) **303**, 193 (1970);
 -, und SPAICH, W., Pharm.Ind. **33**, 15 (1971);
 -, und SPAICH, W., Pharm.Ind. **33**, 900 (1971).
- CUZENT, W., J.Pharm.Chim. **39**, 202 (1861).

DJERASSI, C., KALINER, J. und ALPIN, R.T., Steroids **6**, 1 (1965).

DRÖSELER, W. und VOIGT, R., Pharmazie **22**, 669 (1967).

DUTTA, C.P., RAY LALA, J.K. und CHATTERJEE, A., Phytochemistry **11**, 2891 (1972);

-, -, Indian.J.Chem. **11**, 509 (1973).

GAJDUSEK, C., HOLMES, L.D. und FORD, C., Discussion in Ethnopharmacologic Search for Psychoactive Drugs, S. 179, Public Health Service Publication No. 1645, 1967.

GOBLEY, N.T., J.Pharm.Chim. **37**, 19 (1860).

GOTTLIEB, O.R. und MORS, W.B., J.Org.Chem. **24**, 1614 (1959).

GRACZA, L. und RUFF, P., J.Chromatogr. **193**, 486 (1980).

HÄNSEL, R., BÄHR, P. und ELICH, J., Arch.Pharm. (Weinheim, Ger.) **294**, 739 (1961);

-, und BEIERSDORFF, H.U., Naturwissenschaften **45**, 574 (1958);

-, -, Arzneim.Forsch. **9**, 581 (1959);

-, und KLAPROTH, L., Arch.Pharm. (Weinheim, Ger.) **299**, 503 (1966);

-, RANFT, G. und BÄHR, P., Z.Naturforsch. **18b**, 370 (1963);

-, -, Rimpler, H., Dtsch.Apoth.Ztg. **108**, 1985 (1968).

HALBROCK, K., EBEL, J., ORTMANN, R.W., SUTTER, A., WELLMANN, E. und GRIESEBACH, H., Biochem.Biophys.Acta **244**, 7

HARBORNE, J.B., MARBRY, T.J. und MARBRY, H., The Flavonoids, S.69, Champman and Hall, London 1975.

HOMBERG, E.E. und SEHER, A., Phytochemistry **16**, 288 (1977).

JÖSSANG, P. und MOLHO, D., J.Chromatogr. **31**, 375 (1967).

KACAC, B. und VEJDELEC, J., Handbuch der photochemischen Analyse organischer Verbindungen, Bd. 2, S. 1062 (1974) und 1. Ergänzungsband S. 386 (1977), Verlag Chemie, Weinheim.

KLOHS, M.W., KELLER, F. und WILLIAMS, R.E. J.Org.Chem. **24**, 1829 (1959);
 -, -, -, TOEKES, M.I. und CRONHEIM, G.E. J.Med.Pharm.Chem. **1**, 95 (1959).

KOCH, G., Kawa in Polynesien, Rausch und Realität im Kulturvergleich, Teil 1, S. 193 - 199, Rautenstrauch-Joest-Museum 1981.

KRETSCHMER, W., Münch.Med.Wochenschr. **112**, 154 (1970).

KRETZSCHMAR, R. und MEYER, H.J., Arch.Exp.Path.Pharmac. **250**, 297 (1965a), **251**, 134 (1965b), **177**, 261 (1969);
 -, und -, Arch.Int.Pharmacodyn. **175**, 1 (1968);
 -, und TESCHENDORF, H.J., Chemiker.-Ztg. **98**, 24 (1974).
 -, MEYER, H.J., TESCHENDORF, H.J. und ZÖLLNER, B., Arch.Int. Pharmacodyn. **180**, 475 (1969a);
 -, -, - und -, Arch.Int.Pharmacodyn. **182**, 251 (1969b).

LEWIN, L., Phantastica, S. 284 - 296, Berlin 1927.

MASSICOT, J. und MARTHE, J.P., Bull.Soc.Chim.Fr. **1962**, 1962.

MERCK, E., Chromatographie, Darmstadt

MAY, H.U. und MEYER, H.J., Naunyn-Schmiedeberg's Arch.Exp.Pathol. Pharmacol. **250**, 273 (1965).

MEYER, H.J., Arch.Int.Pharmacodyn. **138**, 505 (1962);
 -, **150**, 118 (1964);
 -, und KRETZSCHMAR, R., Klin.Wochenschr. **44**, 902 (1966);
 -, und MAY, H.U., Klin.Wochenschr. **42**, 407 (1964);
 -, und MEYER-BURG, J., Arch.Int.Pharmacodyn. **148**, 97 (1964).

MULHEIRN, L.J., Tetrahedron Lett. **34**, 3175 (1973).

NÖLTING, E. und KOPP, A., Monit.Scientif. **16**, 920 (1874).

- O'HARA, M.J., KINNARD, J.W. und BUCKLEY, J.P., J.Pharm. Sci. **54**, 1021 (1965).
- O'RORKE, M., C.Rend.hebd.Seances Acad.Sci. **50**, 598 (1860).
- POMERANZ, C., Monatsh.Chem. **10**, 783 (1889).
- RADFORD, T., SWEENEY, J.G. und IACOBUCCI, G.A., Org. Mass Spectrom. **14**, 299 (1979).
- RIPPBERGER, H., Pharmazie **33**, 82 (1978).
- ROWE, J.W., Phytochemistry **4**, 1 (1965).
- RUBINSTEIN, J., Phytochemistry **15**, 195 (1976).
- SAUER, H., Dtsch.Apoth.Ztg. **43**, 1538 (1967).
- SCHELER, W., Grundlagen der allgemeinen Pharmakologie, S. 144, G.Fischer Verlag, Stuttgart 1980.
- SCHÜBEL, K., Naunyn Schmiedebergs Arch. Exp. Pathol. Pharmacol. **102**, 250 (1924).
- SCHULTES, R.E., Ethnopharmacologic Search for Psychoactive Drugs, S. 291, Public Health Service Publication No. 1645, 1967.
- SCHWEDT, G., Chromatographische Trennmethode, S. 83, Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1979.
- SCHWEN, G., Tenside **3**, 69 (1966).
- SCOTT, A.T., Interpretation of the Ultraviolet Spectra of Natural Products, Pergamon Press, Oxford 1964.
- SEITZ, G.J., Ethnopharmacologic Search for Psychoactive Drugs, S. 305, Public Health Service Publication No. 1645, 1967.
- SHAPIRO, R.H., WILSON, H.M und DJERASSI, C., Steroids **1**, 1 (1963).

SMITH, R.M., *Phytochemistry* **22**, 1055 (1983).

SPITELLER, G., *Massenspektrometrische Strukturanalyse Organischer Verbindungen*, Verlag Chemie, Weinheim 1966.

STAFFARD, P., *Enzyklopädie der psychedelischen Drogen*, S. 361, Deutsche Ausgabe Volksverlag, Linden 1980.

STAHL, E., *Dünnschichtchromatographie*, Springer Verlag, Berlin - Heidelberg - New York 1967.

STEINEGGER, E. und HÄNSEL, R., *Lehrbuch der Pharmakognosie*, S. 266, 295, 338, 343 (a), S. 253 (b), Springer Verlag, Berlin 1972.

STEINMETZ, E.E., *Piper methysticum (Kava) famous Drug plant of the South Sea islands*, Amsterdam 1960.

SUCKER, H., FUCHS, P. und SPEISER P., *Pharmazeutische Technologie*, S. 214, Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1978.

TITCOMB, M., *J.Polynesian Soc.* **57**, 105 (1948).

TUNMANN, P. und Grimm, H.J., *Arch.Pharm.* (Weinheim, Ger.) **307**, 891 (1974).

VAN DE SANDE, C. et al., *Org.Mass Spektrom.* **6**, 1333 (1972).

VAN VEEN, A.G., *Proc.Akad.Wetenschappen Amsterdam* **41**, 855 (1938).

VOIGT, R., *Lehrbuch der Pharmazeutischen Technologie*, S. 499.(a), S. 530 (b), VEB Verlag Volk und Gesundheit, Berlin 1975.

VON UNRUH, G., SPITELLER-FRIEDMANN, M. und SPITELLER, G., *Tetrahedron* **26**, 3289, 3303 und 3329 (1970).

WAGNER, H., in J.B.PRIDHAM: *Methods in Polyphenol Chemistry*, S. 37, Pergamon Press, Oxford 1963.

WINZHEIMER, E., Arch.Pharm. (Weinheim, Ger.) **246**, 338 (1908).

YOUNG, R.L., HYLIN, J.W., PLUCKNETT, L., KAWANO, Y. und NAKAYAMA, T., Phytochemistry **5**, 795 (1969).

L E B E N S L A U F

Geburtsdatum	17. 11. 1951
Geburtsort	Gelsenkirchen-Buer
Eltern	Alois Lazar und Ehefrau Wilhelmine, Gertrud geb. Kohlwey
Schulbildung	1958 - 1962 Katholische Volksschule, Gelsenkirchen-Buer-Bülse 1962 - 1967 Realschule für Mädchen, Gelsenkirchen-Buer 1967 - 1970 Leibniz-Gymnasium, Gelsenkirchen-Buer
Reifeprüfung	18. Juni 1970
Pharmazeutisches Praktikum	Juli 1970 - Juli 1972, in der Markt-Apotheke, Gelsenkirchen-Buer
Pharmazeutische Vorprüfung	8. Juni 1972, Münster
Berufstätigkeit	1972 - 1976 in verschiedenen Apotheken als Apotheker-assistentin
Studium	WS 1976/77 - WS 1979/80 Pharmazie an der FU Berlin
1.Staatsexamen	15. März 1979
2.Staatsexamen	26. März 1980
Approbation	20. Mai 1980
Promotion	August 1980 Beginn der vorliegenden Arbeit unter Leitung von Herrn Professor Dr. R. Hänsel. Seit 15. Oktober 1981 Wissenschaftlicher Mitarbeiter am Institut für Pharmakognosie und Phytochemie an der FU Berlin

